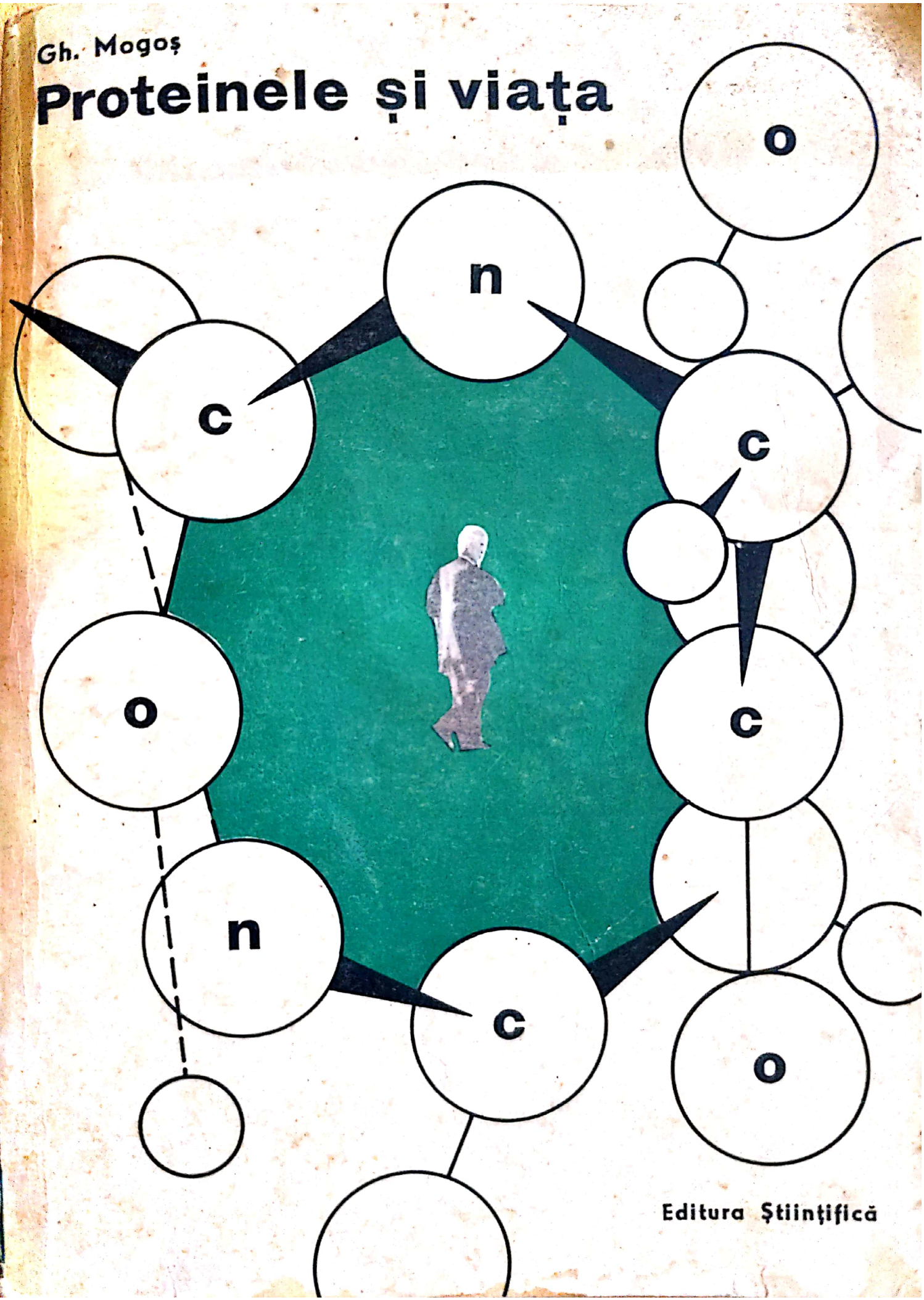
Gh. Mogoș

Proteinele și viața



Editura Științifică

Scanned with OKEN Scanner

Gh. Mogoș

Proteinele și viața

Editura Științifică
București 1967

Scanned with OKEN Scanner

1

Proteinele și lumea vie

Lumea vie și nevie

Lumea înconjurătoare, unică și materială, îmbracă forme extrem de variate în raport cu mișcarea și transformarea materiei. La rîndul ei, materia poate fi împărțită în materie nevie și materie vie. În sfera acesteia din urmă deosebim regnul vegetal și regnul animal. Plantele și animalele formează lumea vie sau biosfera, iar corpurile lipsite de viață lumea nevie. Deși pînă în prezent se cunosc aproximativ 300 000 de specii de plante și peste 1 500 000 de specii de animale, totuși lumea vie este unitară.

În același timp însă, plantele și animalele se prezintă sub cele mai variate forme, diversitatea lor manifestîndu-se atît în gradul de evoluție, cît și în adaptarea lor la condițiile de existență. Unitatea și diversitatea materiei vii sînt două caracteristici fundamentale care coexistă la orice scară de organizare a acesteia. Descoperirile efectuate cu ajutorul analizelor chimice și fizice ale organismelor vii și ale materiei nevii, precum și cele ale meteoriților și aștrilor, au dovedit pe deplin unitatea compoziției lor chimice elementare. Într-adevăr, în compoziția chimică elementară a organismelor vii nu există nici un element chimic deosebit ce nu s-ar întîlni și în lumea nevie. Astfel, dacă ne referim la structura atomică a compoziției corpurilor înconjurătoare, asemănarea lumii vii cu cea nevie este deplină, ceea ce confirmă teza materialismului dialectic despre unitatea materială a lumii.

Studiile întreprinse pînă în prezent ne permit să afirmăm că din cele 92 de elemente naturale aproximativ 60 au fost puse în evidență în compoziția diferitelor organisme. Elementele care se găsesc des și în cantități mai mari în compoziția chimică a organis-

Scanned with OKEN Scanner

melor au fost numite *elemente plastice* sau *bioelemente*, iar cele ce se găsesc rar și în cantități foarte mici au primit denumirea de *oligoelemente*.

Dintre bioelementele care se găsesc aproape în toate organismele vii, inclusiv în corpul omului, menționăm următoarele : oxigenul, carbonul, hidrogenul, azotul, calciul, fosforul, potasiul, sodiul, clorul, sulful, magneziul, fierul, iar dintre oligoelemente cobaltul, zincul, iodul, molibdenul, fluorul, bromul, nichelul, cuprul, aluminiul, rubidiul, cesiul. Oligoelementele au un rol deosebit de important pentru viața organismelor, ele intrînd în compoziția diferitelor vitamine, hormoni, enzime.

Între lumea vie și cea nevie există însă și unele deosebiri fundamentale, care nu pot fi explicate doar prin compoziția chimică, comună amîndurora.

Să vedem în ce constă aceste deosebiri dintre lumea vie și cea nevie, dintre materia vie și materia nevie, pentru a înțelege cu mai multă ușurință *rolul esențial al substanțelor proteice* în determinismul fenomenelor vitale.

Organismele vii se caracterizează prin schimburi permanente cu mediul înconjurător, precum și printr-o autoreînnoire continuă a componentelor chimice care le alcătuiesc, proprietăți ce poartă numele de metabolism. Inexistent la corpurile nevii, *metabolismul reprezintă esența vieții, deoarece din el derivă toate funcțiile de bază ale materiei vii, ale organismelor : nutriția, locomoția, respirația, ereditatea și variabilitatea, creșterea și dezvoltarea, reproducerea și regenerarea, reactivitatea, moartea, etc.*

În cuprinsul acestei lucrări vom vedea că nu există funcție a organismelor vii sau reacție metabolică care să nu fie legată în mod direct sau indirect de prezența proteinelor. În afară de metabolism, corpurile nevii se deosebesc de organismele vii și prin raporturile ce se stabilesc între acestea și mediul înconjurător. Astfel, un corp lipsit de viață, izolat de acțiunea factorilor de mediu își păstrează forma și compoziția chimică un timp cu atît mai îndelungat, cu cît el este mai ferit de acțiunea acestor factori. Așa, de pildă, dacă fierul va fi lăsat sub acțiunea condițiilor de mediu, va rugini, se va transforma în alți compuși. Nu același lucru se întîmplă cu corpurile vii, care, izolate de mediul extern, de condițiile necesare existenței lor, vor înceta a mai supraviețui.

Dar nu numai metabolismul și raporturile cu mediul deosebesc lumea vie de cea nevie, ci și alte proprietăți ale materiei vii, ca : forma, starea fizică, compoziția chimică și structura acesteia.

Scanned with OKEN Scanner

De pildă, corpurile lipsite de viață au o formă rigidă, neschimbătoare, în timp ce corpurile vii se caracterizează prin forme plastice schimbătoare; din punct de vedere fizic, corpurile lipsite de viață se prezintă sub formă gazoasă, lichidă sau solidă, pe cînd cele vii se găsesc sub forma unor sisteme coloidale foarte complexe și eterogene.

La nivel molecular, corpurile lipsite de viață se caracterizează prin aceea că sînt compuse din elemente chimice reunite în molecule simple, cu un număr relativ mic de atomi, pe cînd corpurile vii se compun din elemente chimice reunite în molecule foarte complexe, cu un număr foarte mare de atomi. Totodată, corpurile lipsite de viață au o compoziție chimică stabilă, datorită schimbului permanent pe care ele le întrețin cu mediul înconjurător. Spre deosebire de materia vie, care încorporează în masa ei molecule organice și anorganice fără ca prin aceasta să-și schimbe calitatea, la corpurile nevii încorporarea unui atom sau a unei molecule determină schimbarea calității corpului respectiv.

În sfîrșit, din punctul de vedere al structurii, între lumea vie și cea nevie există deosebiri fundamentale, corpurile lipsite de viață avînd o structură simplă, cristalină sau amorfă, iar organismele vii o structură celulară, complexă.

Lumea vie și nevie formează o unitate indisolubilă, la baza căreia stau compoziția chimică elementară unitară, legea conservării materiei și energiei, procesul de apariție a vieții din materia fără viață. Viața nu este altceva decît o formă specifică, superioară de mișcare a materiei, care a apărut pe o treaptă determinată a dezvoltării istorice a acesteia. În concepția materialist-dialectică, mișcarea fizică, chimică și biologică sînt forme calitativ diferite de mișcare a materiei, caracterizate prin purtători materiali, contradicții și legi specifice și prin evoluția lor în timp.

Mișcarea biologică este o formă superioară de mișcare, care include formele inferioare de mișcare a materiei, adică forma fizică și chimică. Astăzi este un fapt demonstrat că în substanța vie procesele fizice și chimice sînt subordonate legilor biologice. Viața, mișcarea biologică, deși înglobează în mod obligatoriu formele inferioare de mișcare, reprezintă totuși o treaptă superioară, distinctă din punct de vedere calitativ de formele inferioare ale mișcării, fără să poată însă exista în afara lor. Sub raport material, viața nu cuprinde nimic în afară de atomi și molecule — purtătorii mișcării fizice și chimice. Dar ceea ce caracterizează viața este

Scanned with OKEN Scanner

tipul superior și specific de interacțiune a acestor elemente, care din punct de vedere structural dă naștere proteinelor, iar din punct de vedere funcțional procesului specific de metabolism.

Baza materială chimică a mișcării biologice o constituie substanțele organice, și în special proteinele și acizii nucleici, iar baza materială fiziologică o constituie metabolismul. După Engels, viața este modul de existență a corpurilor albuminoide, iar acest mod de existență constă, în esență, în autoreînnoirea continuă a componentelor chimice ale acestor corpuri. Desigur că albumina despre care vorbea Engels nu trebuie identificată cu proteinele individualizate chimic (proteinele lipsite de viață), ci cu protoplasma celulară. În epoca în care Engels făcea aceste aprecieri, albumina nu reprezenta corpuri proteice de sine stătătoare, ci un sistem complex eterogen, în afara căruia nici unul dintre componenții săi nu este viu. Cercetările moderne au confirmat această concepție, arătînd că proteinele nu sînt unica bază a vieții, că acestea nu-și îndeplinesc principalele funcții biologice decît în cadrul interdependenței și interacțiunii cu alte substanțe chimice, și anume : lipidele, glucidele și în special acizii nucleici.

Lumea vie și nevie, biosfera, pe de o parte, și litosfera, hidrosfera și atmosfera, pe de altă parte, formează o unitate a cărei expresie materială o constituie metabolismul, acel schimb neîntrerupt de substanțe dintre organismele vii și mediul înconjurător. Pentru a sublinia legătura indisolubilă dintre lumea vie și nevie, în cele ce urmează vom prezenta cîteva date privind rolul deosebit de important al vieții în istoria chimică a Pămîntului și în procesele geochimice ale biosferei.

Lumea vie este genetic legată de substanțele anorganice. Într-adevăr, plantele verzi sînt principalii transformatori ai energiei solare în energia chimică de pe planeta noastră. Organismele vii captează în permanență o parte din atomii substanțelor anorganice necesare sintezei unor substanțe proprii. Datorită acestui schimb dintre organisme și mediul înconjurător, atomii se găsesc într-o permanentă mișcare, într-o migrațiune biogenă neîntreruptă, care continuă de multe sute de milioane de ani. Asimilînd elementele chimice în procesul nutriției și al respirației, organismele vii creează compuși chimici. Pentru a sublinia proporțiile uriașe ale migrațiunii biogene a elementelor chimice să dăm cîteva exemple. De pildă, cantitatea de calciu care se află în circuitul continuu al materiei vii este de cel puțin 10^{12}— 10^{13} tone și de circa $7 \cdot 10^{17}$ tone în scoarța Pămîntului. Masa de bioxid de carbon care a trecut

Scanned with OKEN Scanner

din organismele vii în rocile calcare este apreciată la $3{,}1 \cdot 10^{16}$ tone, iar cea inclusă în cărbuni la aproximativ $2{,}2 \cdot 10^{13}$ tone. Semănăturile de leguminoase de pe întreaga suprafață a Pământului pot fixa în cursul unui an, cu ajutorul unei microflore speciale care asimilează azotul gazos, aproximativ 4 500 000 de tone de azot atmosferic.

Capacitatea organismelor de a concentra și separa elementele chimice constituie o latură importantă a corelației dintre lumea vie și nevie, dintre materia vie și mediul geochimic. Separarea elementelor chimice poate avea loc în procesul absorbției lor selective de către organismele vii. Așa, de exemplu, unele specii de bacterii concentrează sulful, fierul, manganul; plantele fac rezerve de calciu, stronțiu, molibden, cobalt, nichel, zinc și alte elemente. Animalele concentrează calciul, stronțiul, fosforul, fluorul, vanadiul, nichelul, cuprul, plumbul, manganul, bismutul.

Concentrarea și separarea elementelor chimice de către organisme contribuie la formarea de compuși cu însușiri noi, care determină circuitul ulterior al elementelor chimice în migrațiunea biogenă. Astfel, formele insolubile ale combinațiilor chimice formează roci sedimentare, ceea ce face ca o parte din elementele chimice să fie excluse din procesele de migrațiune și din circuitul substanțelor pentru perioade geologice îndelungate.

Dintre rocile și substanțele minerale care s-au format din schelete de organisme marine menționăm pe cele carbonatate, fosfatice, apatitele, care conțin carbon, apoi rocile silicoase, sulfatice, fluorice etc. Aceste exemple demonstrează rolul însemnat al organismelor în formarea rocilor sedimentare.

Așadar, materia vie exercită o influență puternică asupra migrațiunii majorității elementelor chimice în natură, constituind un factor important în formarea rocilor sedimentare și deci în transformarea mediului înconjurător.

La rîndul său, mediul geochimic modificat influențează răspîndirea organismelor vegetale și animale, metabolismul, variabilitatea și evoluția lor. Rolul pe care îl au viețuitoarele în circuitul materiei în natură se poate aprecia și după componența în gaze a atmosferei actuale. Se consideră că aproape întregul oxigen din atmosferă provine din fotosinteză. El se formează din apă prin dehidrogenarea acesteia în frunzele verzi în procesul de fotosinteză.

Bacteriile fixatoare de azot asimilează azotul liber, care după oxidoreducere este folosit la sinteza aminoacizilor. În acest fel, azotul intră în circuitele alimentare, după care trece din nou în

Scanned with OKEN Scanner

azot liber atmosferic, datorită descompunerii substanțelor azotate din organismele care pier.

Ca și azotul și oxigenul, bioxidul de carbon din atmosferă este tot un produs al proceselor biologice. Echilibrul relativ dintre azot, oxigen și bioxid de carbon, existent în atmosfera terestră, este rezultatul activității biochimice a organismelor vii. S-a calculat că în decurs de un an materia vie de pe Pămînt deplasează o masă de gaze care depășește de cîteva ori greutatea întregii atmosfere.

După moartea organismelor, substanțele organice care intră în constituția acestora sînt supuse transformărilor chimice naturale și se întorc în circuit, deși în unele cazuri cantități uriașe de carbon organic sînt eliminate din circuit pentru perioade îndelungate de timp. Sub influența microorganismelor aerobe și anaerobe, proteinele, glucidele și alte substanțe se transformă în cele din urmă în bioxid de carbon, apă, amoniac, hidrogen sulfurat, hidrogen, azot, metan, care intră din nou în procesele de sinteză a substanțelor organice de către organismele vii.

Prin descompunerea microorganismelor se formează un mare număr de compuși chimici, ca acizi grași și aromatici, oxiacizi, pentoze etc., care joacă un rol important în transformările biochimice care au loc în sol.

În decursul istoriei Pămîntului, o parte din acești compuși s-a păstrat fără a fi transformați în produși finali. Așa, de pildă, în resturile de dinozaur din cretacic (circa 100 000 000 de ani în urmă) și în pești datînd din devonian (300 000 000 de ani în urmă) au fost găsiți o serie de aminoacizi. În resturi mult mai vechi au fost descoperite porfirine. Datorită descompunerilor lente de pe fundul bazinelor de apă care au loc în condiții anaerobe, resturile de organisme se pot îmbogăți treptat în carbon. Din substanțele ce formează țesuturile animale, îndeosebi din grăsimi și din proteine, precum și din resturile algelor (cianoficee, diatomee), se formează acizi grași, alcooli, care se transformă ulterior în diferite hidrocarburi a căror acumulare formează baza asfalturilor, țițeiurilor și a altor roci combustibile din seria petrolieră. O parte din substanțele care intră în componența plantelor superioare, ca lignina și celuloza, proteinele, lipidele, cerurile, rășinile și altele, dau prin descompunere lentă produse care se găsesc în humusul din sol, precum și în rocile humice (humolit). În acest fel, cantitățile uriașe de substanțe organice sintetizate de organismele vii exercită o influență puternică asupra proceselor geochimice din litosferă.

Scanned with OKEN Scanner

Faptele și considerentele expuse demonstrează în mare măsură tezele cunoscute despre existența legăturii profunde dintre organisme și mediu, în special mediul geochimic, influența reciprocă dintre materia vie și mediul natural, dintre lumea vie și lumea nevie.

Fără îndoială că biosfera ca fenomen planetar se află într-o continuă dezvoltare. Au loc neîncetat procese de formare de noi roci și de transport al elementelor chimice de către materia vie. Factorii mediului acționează în permanență asupra evoluției organismelor și a întregii materii vii.

O dată cu apariția societății omenești a apărut și s-a dezvoltat o nouă formă de activitate geochimică, și anume migrațiunea biogenă a elementelor chimice legată de rolul tehnicii create de om, societatea omenească jucînd un rol însemnat în migrațiunea elementelor. Biogeneza este completată în societatea umană de tehnogeneză, care constituie rezultatul acțiunii geochimice a industriei și agriculturii asupra biosferei, cu ajutorul cărora omul face o redistribuire a maselor de compuși chimici pe Pămînt.

Fiind o ființă heterotrofă și avînd nevoie pentru existența sa de substanțe organice de origine biogenă (glucide, lipide, protide), omul reglează creșterea animalelor și cultivarea plantelor în raport cu anumite cerințe. El restructurează lanțurile trofice naturale, creînd surse de furaje și produse alimentare de origine vegetală și animală, prelucrate prin procese tehnologice speciale. Omul creează artificial zone de concentrare a materiei vii în grădini, cîmpii, păduri, bazine artificiale, unde se intensifică migrațiunea biogenă a elementelor chimice. Marea intensitate a proceselor geochimice de migrațiune a elementelor chimice provocate de folosirea tehnicii se face deosebit de simțită atunci cînd se ia în considerație timpul cînd se efectuează aceste procese, precum și masa materiei vii care participă direct sau indirect la desfășurarea acestora. Astfel, plantele de mare productivitate, a căror masă vie crește repede, întrec cu mult, prin energia lor geochimică, multe specii sălbatice.

Pe baza datelor cu privire la influența materiei vii asupra proceselor geochimice ale planetei noastre se poate trage concluzia că biosfera este un înveliș complex, cu caracter neomogen, care se întinde între trei geosfere: litosfera, atmosfera și hidrosfera. Acest înveliș este legat de fenomenele vieții, în limitele sale interacționînd intens partea inferioară a atmosferei, partea superioară a litosferei și întreaga hidrosferă. Granițele biosferei sînt determina-

Scanned with OKEN Scanner

te de limitele răspîndirii vieții, limita superioară este determinată de energia radiantă care face viața imposibilă, iar cea inferioară de temperatura maximă la care organismele nu se mai pot adapta (80—100°C).

În troposferă, limita superioară a vieții este în general pînă la 5 km, iar în unele cazuri, mai mare, ajungînd pînă la 10—15 km. În hidrosferă, limita inferioară ajunge pînă la o adîncime de 10 km, iar în litosferă pînă la aproximativ 3 km. Se consideră astăzi că în procesele apariției și dezvoltării biosferei pot fi deosebite trei etape, și anume : probiosfera, biosfera și noosfera. Aceste etape se caracterizează prin apariția de noi stări calitative ale materiei și noi forme ale activității sale, constituind totodată o expresie a legităților procesului evoluției vieții ca fenomen planetar. În stadiu de probiosferă se formează substanțele organice abiogene care premerg dezvoltarea vieții. Biosfera se caracterizează prin apariția materiei vii, a microorganismelor vii și a substanțelor chimice abiogene, prin intensificarea activității geochimice a substanței vii. Dacă în probiosferă acumularea diferitelor substanțe organice a asigurat apariția materiei vii, a primelor structuri ale acesteia (coacervatele), în biosferă a fost pregătită apariția unei stări calitative noi a materiei, și anume a sistemului nervos al omului. Aceasta a permis biosferei să treacă în stadiul de noosferă, în care mintea omului transformă natura cu ajutorul tehnicii, și creează noi condiții pentru schimbarea înfățișării geochimice a Pămîntului.

De la compușii simpli ai carbonului și azotului la aminoacizi, precursorii proteinelor

În *Dialectica naturii*, Engels afirmă că viața este rezultatul unui lung proces de evoluție a materiei spre forma vie, forma sa superioară de mișcare. Pe baza criteriului complexității crescînde a mișcării ca mod de existență a materiei, el a stabilit pentru prima oară o ierarhie a formelor principale de mișcare : mișcarea mecanică, fizică, chimică, biologică și socială.

Mișcarea biologică este calitativ diferită de mișcarea fizică și chimică, pe care le include, fără însă a se putea identifica sau reduce la acestea. Apariția și evoluția lumii vii s-au făcut treptat, într-un timp foarte îndelungat, prin dezvoltarea de la simplu la

Scanned with OKEN Scanner

complex, de la inferior la superior, de la o calitate inferioară la o alta nouă, superioară.

Apariția biosferei este strîns legată de istoricul Pămîntului, ea constituind o manifestare a legilor de dezvoltare a planetei noastre. În perioada lipsită de viață a Pămîntului, compoziția chimică a învelișului superficial al acestuia era alcătuită din substanțe gazoase, vapori de apă și substanțe dizolvate în apele oceanului primar. Activitatea vulcanică intensă a pus în libertate cantități mari de produși sub formă de gaze și vapori : hidrogen, azot, oxid de carbon și bioxid de carbon, metan, hidrogen sulfurat, sulf și bioxid de sulf, amoniac, compuși hidrogenați ai clorului, fluorului, bromului, iodului și ai altor substanțe.

Dezagregarea radioactivă a elementelor a determinat formarea de heliu și argon, cripton și xenon, iar radiațiile radioactive au provocat degajarea de oxigen liber care a oxidat oxidul de carbon. Prin descompunerea fotochimică a apei s-a degajat oxigen și hidrogen liber.

Bioxidul de carbon, amoniacul, hidrogenul sulfurat, acidul boric, oxizii de sulf și de azot, compușii hidrogenați ai halogenilor reținuți în anumite condiții în roci au contribuit la distrugerea acestora, la dizolvarea lor în apa oceanului primar și la formarea de cationi, anioni și săruri.

În această perioadă timpurie a istoriei Pămîntului, atmosfera și hidrosfera terestră se găseau sub acțiunea unor puternice surse de energie : radiațiile luminoase și termice ale Soarelui, descărcările electrice, căldura și presiunea determinate de activitatea vulcanică. Căderea meteoriților și ciocnirile cu comete, care au avut loc în perioada îndelungată a existenței abiogene a Pămîntului, au determinat captarea de către planeta noastră a unor mase mari de produși ai carbonului. Cercetările moderne au arătat că în capul și în coada cometelor se găsesc radicali sau molecule de tipul : C_2, C_3, CN, CH, CH_2, NH, NH_2, OH, precum și ioni și molecule ionizate : CH^+, OH^+, CO^+, CO_2^+, N_2^+.

Cantitatea mare de compuși ai carbonului, azotului și ai altor substanțe care se găseau în învelișul superficial al Pămîntului în perioada abiogenă a acestuia a constituit substratul din care, sub influența energiei radiante a Soarelui, a energiei de dezintegrare radioactivă și a celei electrice și mecanice, s-au sintetizat substanțe organice mai complexe. Numai această acumulare uriașă de compuși organici a putut asigura apariția și dezvoltarea vieții pe planeta noastră. Evoluția acestor substanțe organice de la

Scanned with OKEN Scanner

compușii simpli ai carbonului la cei complecși a făcut să crească treptat nu numai cantitatea totală de substanțe organice, ci și diversitatea lor. Sinteza substanțelor organice abiogene, dezvoltarea și creșterea complexității lor au avut loc în cursul unei perioade geologice îndelungate. Formarea acestui înveliș al Pămîntului, alcătuit din substanțe organice, reprezintă etapa premergătoare biosferei, etapă deosebit de importantă pentru evoluția planetei noastre. În această perioadă s-a produs apariția materiei vii din cea nevie.

Descoperirile paleontologice și paleobiochimice permit să situăm începuturile formării biosferei cu un miliard și jumătate de ani în urmă, cînd condițiile de mediu de pe suprafața Pămîntului au început să se apropie de cele actuale.

După Oparin, schimbările materiei pînă la apariția vieții pot fi împărțite în trei etape principale : 1) apariția substanțelor organice inițiale; 2) apariția polimerilor macromoleculari ai aminoacizilor; 3) apariția corpilor proteici înzestrați cu metabolism.

Componenții principali ai tuturor ființelor vii sînt proteinele, substanțe organice de mare complexitate formate din aminoacizi. Nenumărate experiențe de laborator au dovedit pe deplin posibilitatea sintezei aminoacizilor și a altor substanțe organice pe cale chimică, abiogenă, în condiții asemănătoare cu cele din atmosfera primitivă. Astfel, cercetările experimentale de mare amploare din ultimii ani au demonstrat posibilitatea unor sinteze abiogene succesive ale unor compuși organici complecși în perioada dezvoltării Pămîntului care a precedat apariția biosferei. În prezent s-a realizat sinteza artificială a multor substanțe organice pe care le pot sintetiza numai organismele vii.

Dar problema esențială o constituie posibilitatea sintezei unor substanțe biochimice din compușii simpli ai vechiului înveliș exterior al Pămîntului, folosindu-se pentru aceasta surse de energie din mediul geochimic natural. Au fost sintetizați mulți acizi organici, printre care și aminoacizi, precum și glucide, purine, polipeptide și polimerii lor, compuși similari cu proteinele, și alte substanțe. Prin descărcări electrice într-un amestec de metan, hidrogen, amoniac și vapori de apă în condiții reducătoare, Miller a reușit să sintetizeze 17 acizi din seria alifatică, printre care și aminoacizi, precum și ureea. În 1956 Abelson a sintetizat aminoacizi folosind acțiunea descărcării electrice asupra unui amestec de bioxid de carbon, apă și amoniac sau a altor amestecuri similare de gaze.

Scanned with OKEN Scanner

Alți autori, folosind acțiunea radiațiilor ultraviolete și a descărcărilor electrice în soluțiile de aldehidă formică și ioni de amoniu sau într-un amestec de vapori de apă, amoniac, metan și oxid de carbon, au reușit să realizeze cu succes sinteza aminoacizilor. Astăzi se cunosc numeroase metode de obținere a aminoacizilor pe cale artificială, cum este, de exemplu, aminarea acizilor dehalogenați sau alte metode specifice pentru anumiți aminoacizi.

În 1960 s-a reușit să se sintetizeze aminoacizi din acizi organici aflați în soluții apoase saturate cu azot, expuse apoi undelor ultrasonore. Un exemplu îl constituie obținerea acidului aspartic din acid succinic și a acidului glutamic din acid glutaric. De asemenea s-au obținut amestecuri de aminoacizi din aldehida formică și săruri de amoniu sub acțiunea radiațiilor ultraviolete.

Așadar, problema posibilităților sintezei primare a unor aminoacizi din compușii simpli ai azotului și carbonului în perioada care a precedat apariția vieții pe Pămînt se poate considera rezolvată în sens pozitiv. Sub acțiunea radiațiilor ultraviolete, apa, amoniacul și hidrocarburile se descompun într-un mare număr de radicali, ca, de exemplu, H, OH, CO; CH, CH_2, CH_3, C_2H, NH, NH_2, CN etc., care, în diferite condiții, pot să intre în diverse reacții, dînd naștere la o serie de compuși organici. Se presupune că în aceste reacții un anumit rol revine și diferiților catalizatori minerali, ca oxidul de molibden și clorura de fier. Printre factorii care au putut contribui la sintezele abiogene ale aminoacizilor, un rol important l-a avut temperatura. În acest sens, rezultate deosebit de interesante a obținut Oro (1961), care a studiat influența temperaturilor de 30—100°C asupra proceselor de sinteză care au loc în soluțiile apoase de aldehidă formică, aldehidă acetică și alți compuși. În aceste amestecuri reactive au fost identificați aminoacizi, amide ale aminoacizilor, acizi alifatici, polipeptide, purine, pirimidine, imidazoli, pentoze, riboze, dezoxiriboze.

Acest autor consideră că toți compușii amintiți mai sus au putut fi sintetizați din substanța cometelor captate cîndva de Pămînt și trage concluzia că condensările de substanță organică ce apar în urma ciocnirilor cometelor cu Pămîntul au putut contribui la sintezele primare.

Desigur, după apariția primelor organisme vii, condițiile de formare a aminoacizilor din copușii simpli ai carbonului și azotului s-au schimbat în mod radical. În prezent, pe planeta noastră, aminoacizii sînt sintetizați atît de plante, cît și de animale.

Scanned with OKEN Scanner

Căile pe care se realizează sinteza fiecărui aminoacid ce intră în constituția proteinelor vor fi expuse în capitolele următoare. Amintim doar că în timp ce organismele vegetale și unele bacterii autotrofe sînt capabile să sintetizeze din bioxid de carbon și amoniac toți aminoacizii din natura vie, organismele animale, ca și bacteriile heterotrofe, care după cum vom vedea sînt dependente de cele vegetale, nu pot să sintetizeze aminoacizi din compușii simpli ai carbonului și azotului, ci pornind de la substanțe organice mult mai complexe, ca de exemplu acizii organici. De asemenea trebuie să reținem faptul că un număr important de aminoacizi esențiali sau indispensabili nu pot fi sintetizați decît de către organismele vegetale heterotrofe, precum și de unele microorganisme.

Și acum, înainte de a descrie proteinele din natura vie, să vedem ce sînt aminoacizii, care sînt caracteristicile lor fizice și chimice importante pentru fenomenele biologice. Cunoașterea acestor caracteristici este deosebit de utilă pentru înțelegerea esenței funcțiilor biologice ale proteinelor, precum și a numeroaselor procese vitale legate de rolul pe care-l îndeplinesc aminoacizii în metabolismul general al azotului din substanța vie.

Aminoacizii sînt substanțe organice formate din carbon, hidrogen, oxigen și azot. Unii dintre ei conțin în molecula lor și sulf. Aceste substanțe, care formează adevărate „pietre de construcție" pentru molecula proteică, se găsesc în toate celulele organismului viu. Ele se pot obține prin hidroliza acidă, alcalină sau enzimatică a proteinelor. Pînă în prezent, toți aminoacizii care intră în constituția proteinelor au fost izolați și purificați.

În raport cu posibilitățile organismelor animale de a sintetiza aminoacizii, aceștia se clasifică în *aminoacizi esențiali* sau indispensabili, care nu pot fi sintetizați de organismul animal, și *aminoacizi neesențiali* sau dispensabili, care pot fi sintetizați de către organismul animal. Dintre cei 21 de aminoacizi izolați din proteine, 10 sînt indispensabili pentru dezvoltarea normală a organismului, și anume : lizina, triptofanul, treonina, metionina, leucina, izoleucina, valina, fenilalanina, arginina (parțial esențială) și histidina (parțial esențială). Pentru organismul uman sînt esențiali sau indispensabili numai primii opt aminoacizi din cei enumerați mai sus.

Aminoacizii neesențiali sau dispensabili sînt : glicocolul sau glicina, alanina, serina, acidul aspartic, acidul glutamic, prolina, hidroxiprolina, cisteina, acidul hidroxiglutamic, asparagina și glutamina.

Scanned with OKEN Scanner

După cum vom vedea cînd vom vorbi de transformările pe care le suferă proteinele și elementele lor structurale, o parte din aminoacizii naturali se pot transforma în glucoză, de unde și numele lor de *aminoacizi glucogenici*. Cercetările moderne au arătat că organismele superior organizate au posibilitatea să sintetizeze glucoza necesară pentru nevoile energetice, folosind toți aminoacizii cunoscuți, în afară de lizină.

Din punct de vedere chimic, aminoacizii sînt compuși cu funcții mixte, care conțin în molecula lor atît gruparea amino (NH_2), cu caracter bazic, cît și gruparea carboxil (COOH), cu caracter acid, corespunzător formulei generale

$$R-HC\begin{cases}COOH\\NH_2\end{cases}$$

Radicalul (R) poate avea caracter alifatic, aromatic sau heterociclic. O moleculă de aminoacid poate conține una sau mai multe grupări amino și carboxil. La majoritatea aminoacizilor naturali, grupările NH_2 și COOH sînt așezate pe scheletul carbonic în poziția α, ei fiind deci α-aminoacizi. Aminoacizii care conțin în moleculă același număr de grupări — NH_2 și — COOH au caracter slab acid. Cînd numărul grupărilor — COOH întrece pe cel al grupărilor — NH_2 sau invers, aminoacidul are caracter acid, respectiv bazic.

Aminoacizii care conțin în molecula lor o funcție acidă (—COOH) și una bazică (—NH_2) se numesc *acizi monoaminomonocarboxilici*, cei care conțin în molecula lor două funcții acide și o funcție bazică poartă numele de *acizi monoaminodicarboxilici* și se comportă ca acizi, iar cei care conțin în molecula lor două funcții bazice și o funcție acidă se numesc *acizi diaminomonocarboxilici* (tabelul 1) și se comportă în general ca baze.

Tabelul 1

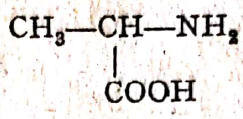
I. AMINOACIZII ALIFATICI

A. Acizi monoaminomonocarboxilici

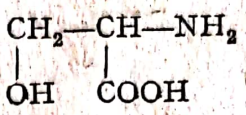
1. Glicina (glicocolul) sau acidul aminoacetic

$$\begin{array}{l}CH_2-NH_2\\|\\COOH\end{array}$$

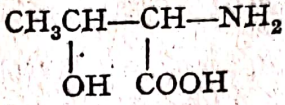
2. Alanina sau acidul α-aminopropionic



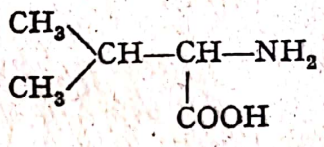
3. Serina sau acidul α-amino-β-hidroxipropionic



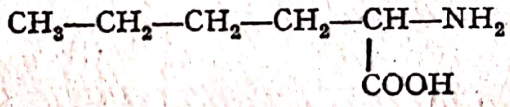
4. Treonina sau acidul α-amino-β-hidroxibutiric



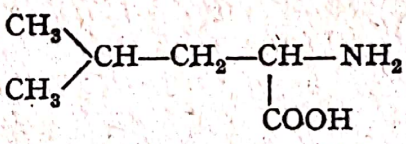
5. Valina sau acidul α-aminoizovalerianic



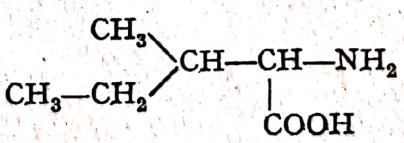
6. Norleucina sau acidul α-aminocaproic



7. Leucina sau acidul α-aminoizocaproic

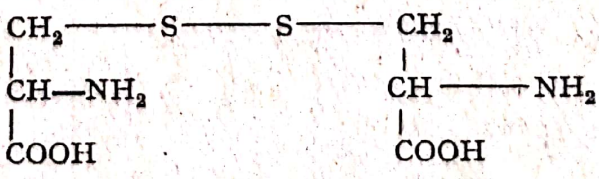


8. Izoleucina sau acidul α-amino-β-etil-β-metilpropionic

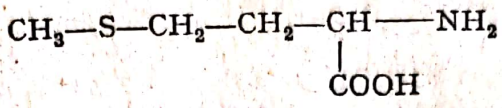


Acizi monoaminomonocarboxilici conținînd sulf

9. Cistina (dicisteina) sau acidul di-β-tio-α-aminopropionic

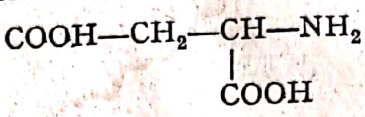


10. Metionina sau acidul α-amino-γ-metiltiolbutiric

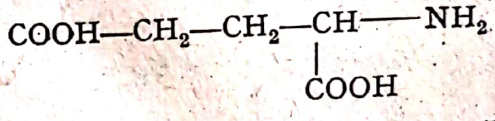


B. **Acizi monoaminodicarboxilici**

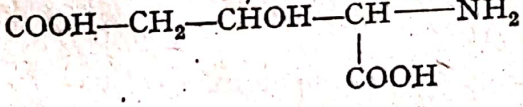
11. Acidul aspartic sau acidul α-aminosuccinic



12. Acidul glutamic sau acidul α-aminoglutaric

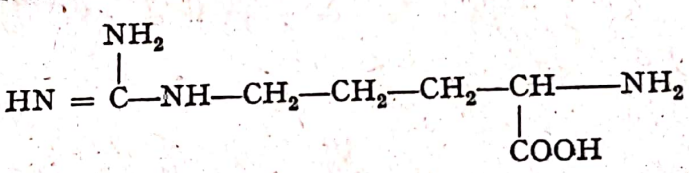


13. Acidul hidroxilglutamic sau acidul α-amino-β-hidroxilglutaric

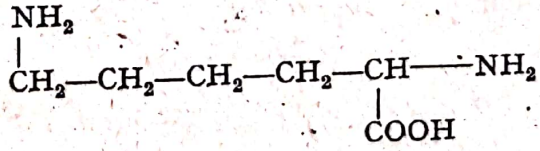


C. **Acizi diaminomonocarboxilici**

14. Arginina sau acidul α-amino-δ-guanidin-valerianic

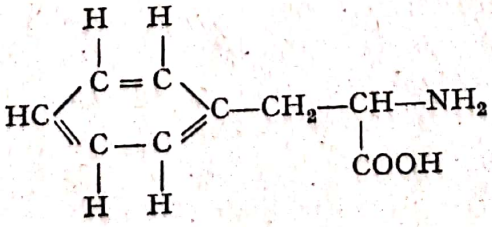


15. Lizina sau acidul α-ε-diaminocaproic

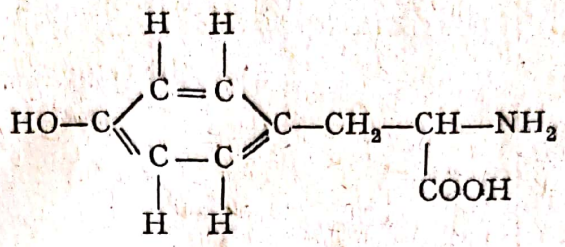


II. AMINOACIZII AROMATICI

16. Fenilalanina sau acidul α-amino-β-fenilpropionic

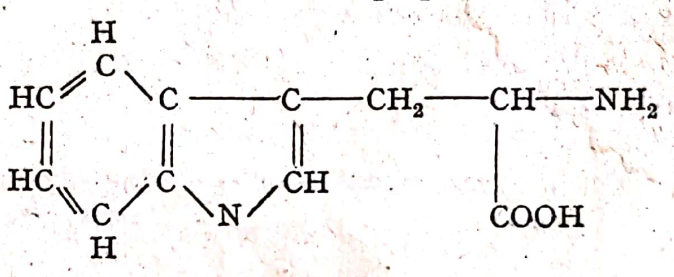


17. Tirozina sau acidul α-amino-β-parahidroxifenilpropionic

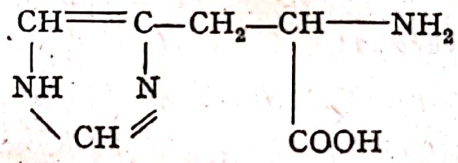


III. AMINOACIZI HETEROCICLICI

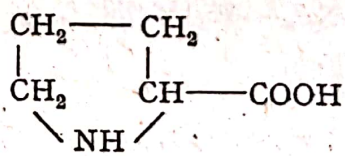
18. Triptofanul sau acidul α-amino-β-indolpropionic



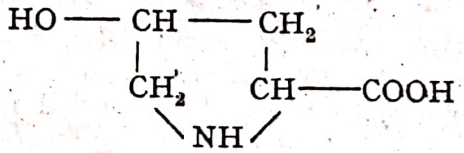
19. Histidina sau acidul α-amino-β-imidazolpropionic



20. Prolina sau acidul pirolidin-α-carboxilic



21. Hidroxiprolina (oxiprolina) sau acidul γ-hidroxipirolidin-α-carboxilic

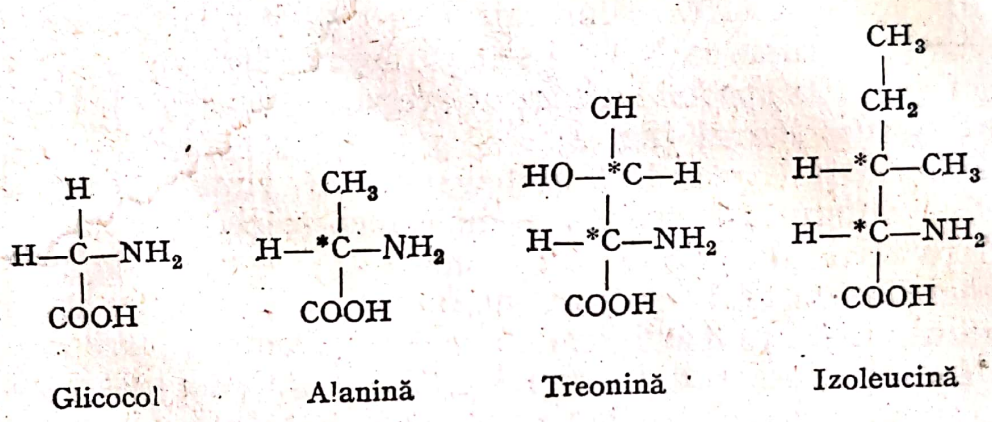


Din punct de vedere fizic, aminoacizii sînt substanțe solide, cristalizate, de culoare albă, mai mult sau mai puțin solubile în apă. Solubilitatea aminoacizilor în apă variază de la 0,010 la 62%. Așa, de pildă, cistina și tirozina sînt foarte greu solubile în apă. În soluție apoasă, aminoacizii cu moleculă mică au gust dulceag, iar cei cu moleculă mare au gust amar.

Una dintre caracteristicile principale ale aminoacizilor este *activitatea optică*. Toți aminoacizii, cu excepția glicocolului, sînt

Scanned with OKEN Scanner

optic activi, adică au proprietatea de a roti planul luminii polarizate. Puterea rotatorie a acizilor aminați este în raport cu așa-numita *izomerie optică*, adică în raport cu existența unei disimetrii moleculare, care, la rîndul ei, este condiționată de prezența unuia sau a mai multor atomi de carbon asimetrici, adică legați de patru radicali diferiți. În figura 1 sînt înfățișate relațiile dintre activitatea optică și disimetria moleculară a aminoacizilor. Glicocolul, care nu conține nici un atom de carbon asimetric, este optic inactiv. Alanina și toți ceilalți aminoacizi sînt optic activi, deoarece conțin în molecula lor unul sau mai mulți atomi de carbon asimetrici.

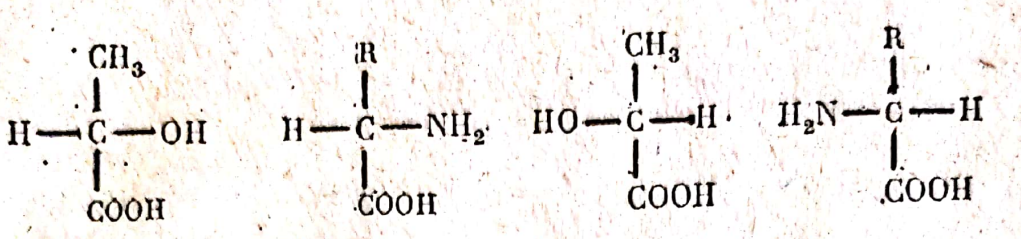


1. Activitatea optică și disimetria moleculară a aminoacizilor. Atomii de carbon asimetrici sînt marcați în figură cu cîte un asterisc

Numărul izomerilor optic activi depinde de numărul carbonilor asimetrici, iar efectul optic general al moleculei care conține mai mulți carboni asimetrici este dat de suma algebrică a tuturor atomilor asimetrici. Astfel, alanina, avînd doar un singur carbon asimetric, posedă doi izomeri optic activi, iar treonina, oxiprolina și izoleucina, conținînd cîte doi atomi de carbon asimetrici, au cîte patru izomeri optici. În raport cu activitatea optică, fiecare aminoacid, în afară de glicocol, poate exista sub trei forme: 1) *dextrogiră* (notată cu semnul +), care deviază planul luminii polarizate spre dreapta; 2) *levogiră* (notată cu —), care deviază planul luminii polarizate spre stînga; 3) *racemică* (notată cu semnul) $\pm$, formă optic inactivă, care nu deviază planul luminii polarizate.

Fiecare moleculă de aminoacid are o anumită configurație spațială, un anumit aranjament al diferiților atomi sau grupuri

Scanned with OKEN Scanner



D(+) Acid lactic D(+) Aminoacid D(−)Acid lactic L(−) Aminoacid

2. Configurația sterică a aminoacizilor

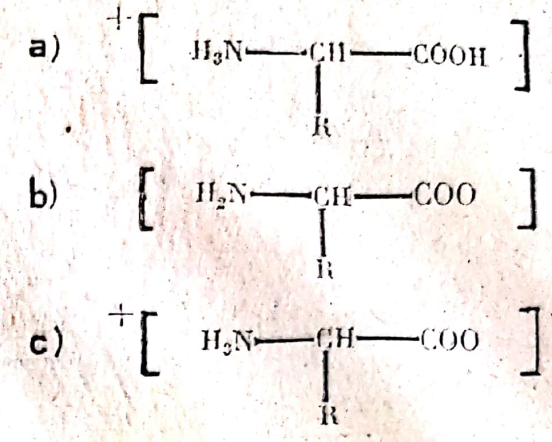
de atomi. S-a convenit să se noteze cu D sau d toți aminoacizii care au gruparea NH_2 în aceeași poziție cu gruparea OH din molecula acidului lactic dextrogir D(+) și cu L sau l toți aminoacizii care au gruparea NH_2 în stînga, asemănător cu L(−), acidul lactic. Dispoziția spațială a acestor grupări atomice poartă numele de *configurație sterică* (fig. 2).

Literele D și L plasate înaintea numelui aminoacidului arată exclusiv configurația sterică a moleculei respective, nu însă și sensul rotației planului luminii polarizate, deoarece în molecula aminoacizilor cu mai mulți atomi de carbon asimetrici acest sens este rezultanta însumării tuturor acestor atomi de carbon asimetrici. Indicarea sensului rotației planului luminii polarizate, cu alte cuvinte a activității optice, se face, așa cum am văzut mai sus, prin semnele plus sau minus, care se plasează înaintea numelui aminoacidului. Ca atare, aminoacizii dextrogiri pot fi D(+) sau L(+), iar cei levogiri D(−) și L(−). Toți aminoacizii care intră în constituția proteinelor fac parte din seria L, avînd aceeași configurație cu cea a acidului L lactic. În ultima vreme s-au pus în evidență însă și aminoacizi care fac parte din seria D.

Cel mai important aminoacid din seria D este acidul D(−) glutamic. În hidrolizatele polipeptidelor cu acțiune antibiotică, ca de pildă gramicidina și tirocidina care se izolează din mediile de cultură a bacteriei *Bacillus brevis*, au fost găsiți acidul D-asparagic (D-aspartic), D-glutamic, D- α-aminoadipic, D-alanina, D-fenilalanina, D-leucina, D-ornitina și D-valina. Configurația sterică are o importanță biologică deosebită, deoarece organismele superior organizate asimilează aproape în exclusivitate formele L, pentru care sistemele enzimatice prezintă specificitate de substrat.

Existența în molecula aminoacizilor a celor două funcții chimice, una acidă (COOH) și alta bazică (NH_2), conferă acestui compus

Scanned with OKEN Scanner

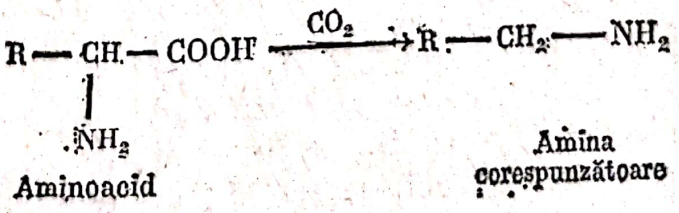


3. Disocierea hidroelectrolitică a aminoacizilor în soluții apoase : *a* — ion pozitiv; *b* — ion negativ; *c* — ion bipolar

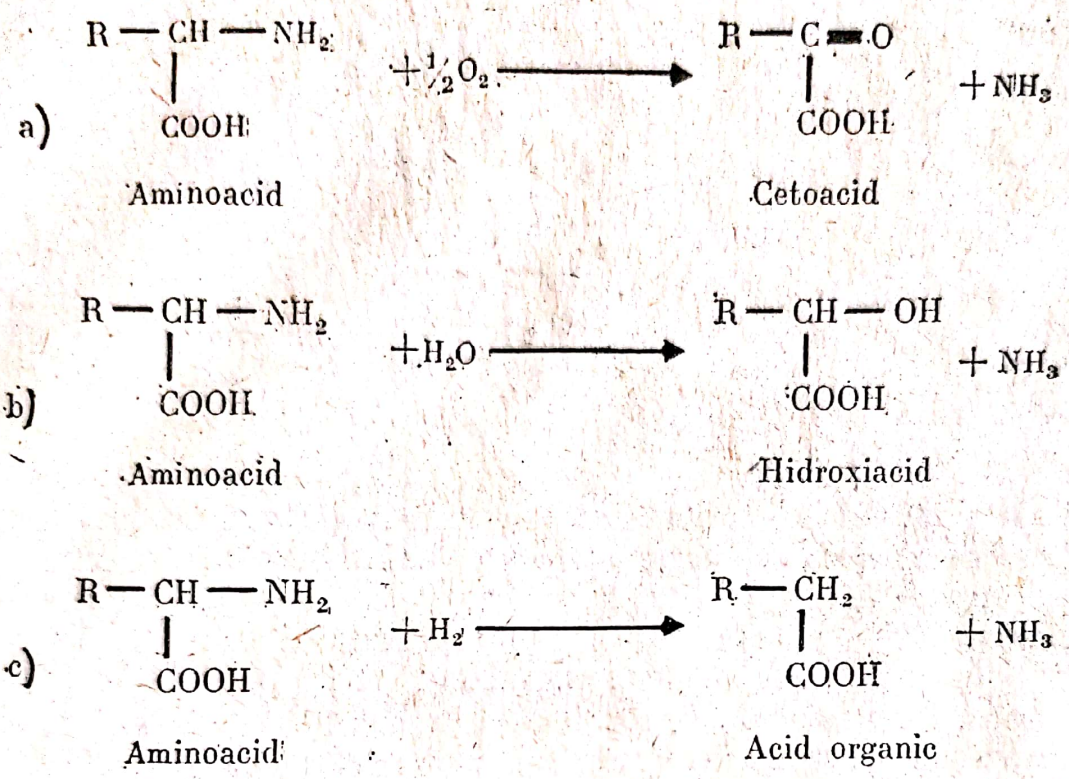
organic o proprietate importantă din punct de vedere biologic, și anume *caracterul amfoter*. Gruparea carboxilică poate disocia ca orice gupare acidă, punînd în libertate atomi de hidrogen sub formă ionică (H^+). La rîndul ei, gruparea aminică poate fixa ioni de hidrogen prin analogie cu amoniacul ($NH_3 + H^+NH_4^+$). În mediu apos, funcția acidă poate disocia în $R\text{-}COO^- + H^+$, punînd în libertate un proton, iar funcția bazică se disociază în $—NH_3^+$, fixînd un proton. Dacă ambele grupări chimice (NH_2 și COOH) sînt disociate în același timp, în soluție apar ioni bipolari. În felul acesta aminoacizii disociați se pot prezenta sub trei forme : ioni pozitivi, negativi și bipolari (fig. 3). Orice moleculă de aminoacid nu poate fi găsită într-o soluție apoasă decît sub una dintre aceste trei forme. Predominanța unei forme sau a alteia este în funcție de constantele de ionizare a grupărilor acide sau bazice și de concentrația ionilor de hidrogen din mediul de disociere.

Din punct de vedere chimic, aminoacizii au însușiri care reflectă prezența celor două grupări funcționale (—COOH și $—NH_2$) în molecula lor. Însușirile chimice care țin de gruparea carboxilică sînt : formarea de esteri cu alcoolii (aminoacid + alcool → ester), formarea de săruri (halogenuri) cu halogenii și decarboxilarea.

Decarboxilarea (fig. 4), proces care constă în îndepărtarea grupării carboxilice din molecula aminoacidului și formarea conse-



4. Decarboxilarea aminoacizilor. După îndepărtarea grupării COOH, aminoacidul se transformă în amină



5. Dezaminarea aminoacizilor :
a — dezaminare oxidativă; *b* — dezaminare hidrolitică; *c* — dezaminare reductivă

cutivă a unor amine, reprezintă o proprietate importantă mai ales din punct de vedere biologic.

Dintre însușirile chimice care țin de gruparea aminică amintim doar formarea de săruri cu acizii, (formarea de betaine și dezaminarea. Dezaminarea constă în îndepărtarea grupării aminice din molecula aminoacidului, urmată de formarea consecutivă a unor cetoacizi corespunzători (fig. 5). Procesul de dezaminare are loc fie pe cale oxidativă, fie pe cale neoxidativă. Așa cum vom vedea în capitolul consacrat metabolismului proteic, în organism dezaminarea se face, cu preponderență, pe cale oxidativă, reacția fiind catalizată de sisteme enzimatice complexe (dezaminaze, transaminaze). Există și însușiri chimice ale aminoacizilor care țin de prezența concomitentă a grupării aminice și carboxilice, ca, de exemplu, formarea de compuși colorați cu ninhidrina, formarea legăturilor peptidice etc. Formarea de compuși complecși colorați cu ninhidrina și alte substanțe (orceină, săruri de cupru etc.) reprezintă una dintre proprietățile chimice de mare importanță practică, întrucît ea stă la baza tehnicilor moderne de identificare

Scanned with OKEN Scanner

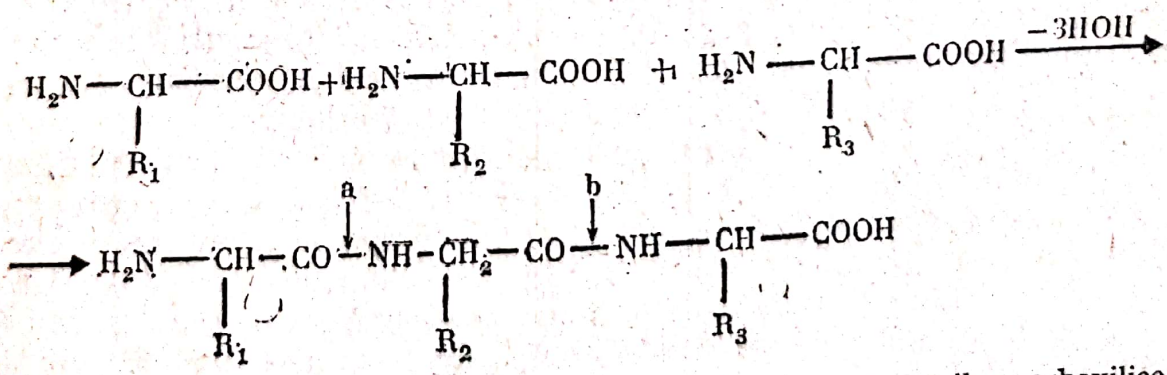
și dozare a aminoacizilor, după ce aceștia au fost în prealabil separați prin diferite metode.

Din punct de vedere biologic, proprietatea cea mai importantă a aminoacizilor este aceea de a forma *legături peptidice*. Într-adevăr, combinarea aminoacizilor între ei se realizează prin formarea de legături între carboxilul unui aminoacid și gruparea aminică a altui aminoacid, legături denumite peptidice (fig. 6). Înlănțuirea aminoacizilor în lanțuri polipeptidice, care se realizează prin intervenția unor sisteme enzimatice complexe, constituie prima treaptă a procesului de biosinteză a proteinelor.

În natura vie există un număr de aproximativ 100 de aminoacizi care au fost identificați și izolați din țesuturile animale și vegetale. Dintre aceștia, 20 sînt de importanță biologică fundamentală, deoarece, așa cum arătam mai înainte, ei intră în mod constant în constituția proteinelor. Unii aminoacizi liberi din organismul plantelor și al animalelor nu fac parte din elementele de construcție ale proteinelor.

Datorită progreselor realizate de chimia organică s-au putut obține pe cale artificială și o serie de aminoacizi care nu se găsesc în organismele vii. În cele ce urmează vom descrie principalii aminoacizi din natura vie.

Glicocolul, glicina sau acidul α-aminoacetic este cel mai simplu aminoacid cunoscut. A fost obținut pe cale sintetică din amoniac și acid cloracetic. Este singurul aminoacid optic inactiv, deoarece nu conține nici un atom de carbon asimetric. S-a obținut în stare cristalină. Glicocolul nu intră în structura tuturor proteinelor, deși se găsește atît în regnul vegetal, cît și în cel animal. În majoritatea proteinelor de origine animală se găsește în cantități mici.



6. Formarea legăturilor peptidice (*a*, *b*) prin combinarea grupărilor carboxilice cu cele aminice ale aminoacizilor

Scanned with OKEN Scanner

Lipsește complet din zeină, proteina din boabele de porumb, hordeină, proteina din boabele de orz, și din alte cîteva proteine de origine vegetală. A fost găsit în stare liberă în semințele unor plante.

Glicocolul nu este un aminoacid esențial sau indispensabil, deoarece el poate fi sintetizat în organismele animalelor din serină, treonină, sarcozină sau acid glioxilic. Deși este cel mai simplu aminoacid, el are o importanță deosebită pentru viață, deoarece participă în foarte multe reacții biochimice de interes biologic deosebit. Derivatul metilat al glicocolului poartă numele de sarcozină, substanță care a fost pusă în evidență pentru prima oară la echinoderme.

Alanina, sau acidul α-aminopropionic, a fost izolată din produșii de hidroliză ai mătăsii naturale. Acest aminoacid participă la formarea tuturor proteinelor vegetale și animale. Conținînd un atom de carbon asimetric, alanina se găsește sub două forme optic active : dextro (+) și levo (—). După configurația sterică, alanina aparține seriei L. Există totuși și forma D, pusă în evidență în hidrolizatele de *Lactobacillus arabinosus*.

În regnul vegetal, alanina se găsește în cantitate mai mare în zeină. În stare liberă a fost pusă în evidență în diferite alge, frunze de tutun și în alte plante. Există și o β-alanină, care, de altfel, este singurul β-aminoacid întîlnit în natura vie. β-alanina se găsește combinată în dipeptizii carnozină (β-alanil-histidina), izolată din extractele de carne, anserină (β-alanil-metil-histidină), izolată din mușchii păsărilor, și în acidul pantotenic. În stare liberă, β-alanina a fost găsită în multe plante, ca, de exemplu, în tomate, în fasole, soia, rădăcinile de leguminoase etc.

Alanina este un aminoacid neesențial pentru organismele animale, deoarece poate fi sintetizată din acidul piruvic, acidul aspartic și kinurenină, derivat al triptofanului. β-alanina are un rol biologic deosebit de important, prin faptul că intră în compoziția acidului pantotenic și prin acesta în structura coenzimei A, care are multiple funcții biologice în oxidarea glucidelor, lipidelor și protidelor.

Serina, sau acidul α-amino-β-hidroxipropionic, izolată pentru prima oară din produșii de hidroliză ai mătăsii naturale, se găsește în cantitate mică în numeroase proteine vegetale și animale, dar există și proteine în care apare în cantitate mai mare, ca, de exemplu, în salamina din sperma peștilor, în edestina din semințele de cînepă, în proteinele din migdale, din algele marine etc. Serina a fost pusă în evidență în stare liberă în sudoare, în semințele germinate etc. Acest aminoacid a fost obținut pe cale sintetică prin mai

Scanned with OKEN Scanner

multe metode. Serina este un aminoacid neesențial pentru organismele animale, deoarece poate fi sintetizată de către acestea din aldehida formică și glicocol, precum și din produșii de metabolizare ai glucidelor cu trei atomi de carbon.

Ca și glicocolul în care se poate transforma, serina participă la numeroase procese metabolice, ca, de pildă, la formarea etanolaminei, colinei și betainei, care, la rîndul lor, dețin funcții biologice importante. Așa cum vom vedea în capitolul care tratează despre metabolismul proteinelor, serina reprezintă una dintre sursele principale de carbon care sînt folosite de către materia vie în procesele de biosinteză a numeroși compuși. În natură au fost puși în evidență mai mulți derivați naturali ai serinei, ca, de pildă, fosfoserina, azoserina și cicloserina. Ultimii doi derivați, extrași din culturile de *Streptomyces*, manifestă, pe lîngă proprietăți antibiotice, și proprietăți antimitotice și mutagenice.

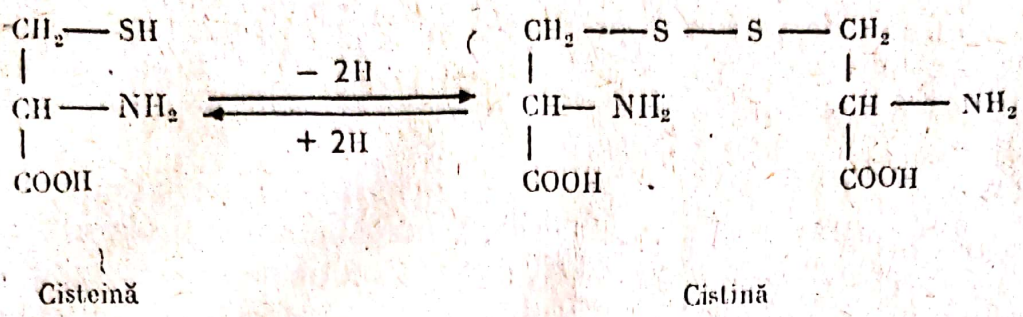
Treonina, sau acidul α-amino-β-hidroxibutiric, a fost izolată din hidrolizatele de fibrină. Ea se găsește în cantitate mai mare în lactoglobulină, în edestină, în proteinele din soia și cereale, din cartofi și din algele marine. Treonina este un aminoacid care nu poate fi sintetizat în organismul animal, fiind indispensabil pentru creșterea acestuia. Ea este sintetizată în plantele verzi din acidul aspartic. Intră în constituția substanțelor antibiotice din grupa actinomicinelor și polimixinelor.

Valina, sau acidul α-aminoizovalerianic, a fost izolată din extractul de pancreas. În majoritatea cazurilor, ea se găsește, în cantitate mică, în numeroase proteine vegetale și animale. În cantitate mai mare, valina se întîlnește în proteinele din semințele de in, iar în stare liberă a fost pusă în evidență în lucernă și în boabele de secară în stare de germinație. D-valina intră în constituția antibioticelor actinomicina și gramicidina. Valina nu poate fi sintetizată de organismele animale.

Leucinele sînt aminoacizi al căror schelet carbonic este format din șase atomi de carbon care se găsesc sub trei forme izomere, și anume *norleucina*, sau acidul α-aminocaproic, *leucina*, sau acidul α-aminoizocaproic, și *izoleucina*, sau acidul α-amino-β-metilvalerianic. Leucina a fost izolată pentru prima oară din hidrolizatele de caș și apoi din cele de lînă.

Acest aminoacid intră în constituția tuturor proteinelor din natura vie și se găsește în cantitate mai mare în unele proteine vegetale, ca zeina și edestina. În stare liberă a fost pusă în evidență în semințele germinate. D-leucina intră în constituția unor antibio-

Scanned with OKEN Scanner



7. Două molecule de cisteină se unesc printr-o legătură de sulf (— S — S —) formînd molecula de cistină

tice, cum sînt gramicidina și polimixinele. În procesele de fermentație alcoolică, leucina se transformă în izoleucină și alcool izoamilic. Izoleucina a fost găsită pentru prima oară în melasa de sfeclă de zahăr. Acest aminoacid apare în numeroase proteine animale și vegetale. Atît leucina, cît și izoleucina nu pot fi sintetizate în organismul animal. Leucina este sintetizată de către organismele autotrofe din valină și treonină. Ea are un important rol biologic, deoarece este un precursor în biosinteza compușilor cu structură izoprenică, ca, de exemplu, steroidele, carotenoidele, vitaminele K, E, A, D, hormonii steroizi etc.

Cisteina, sau acidul α-amino-β-tiopropionic, și *cistina*, sau acidul β-diamino- β-ditiolacetic, sînt aminoacizi foarte răspîndiți în natură, care conțin în molecula lor sulf sub forma funcției tiol (—SH) sau derivați ai acestuia. Cistina a fost găsită pentru prima oară în calculii urinari și izolată din produșii de hidroliză ai keratinei din păr. Ea se găsește nu numai în scleroproteinele din țesuturile animale (unghii, păr, copite), ci și în proteinele vegetale, ca, de exemplu, cele din cartofi, în glutelinele din orz și secară, în gliadinele din grîu etc. A fost pusă în evidență în stare liberă în unele alge marine.

Cisteina apare printre produșii de hidroliză ai proteinelor care conțin cistină, în urma scindării reductive a acesteia. Ca și cistina participă la construcția unor proteine animale și vegetale, ca, de exemplu, a proteinelor din epidermă, a edestinei etc. Cisteina a fost pusă în evidență în stare liberă în rădăcinile și în frunzele unor plante. Ea este destul de ușor solubilă în apă, spre deosebire de cistină, care este foarte greu solubilă, din care motiv formează uneori la om calculi în rinichi.

Cisteina pierde ușor hidrogenul de la gruparea tiolică (—SH). Pe această cale, din două molecule de cisteină se formează o moleculă de cistină, prin pierderea a doi atomi de hidrogen și stabilirea

Scanned with OKEN Scanner

unei legături între atomii de sulf, legătură care poartă denumirea de disulfidică (fig. 7.) Cisteina este deci jumătate din cistină și adesea se notează ca atare. Reacția de transformare a cisteinei în cistină este reversibilă, funcționînd ca un sistem oxidoreducător. Într-adevăr, la nivelul celulelor, această reacție este de mare importanță biologică, deoarece ia parte la marile procese ale respirației celulare, cisteina jucînd rolul de transportor de hidrogen.

În organismul animalelor superioare și al omului, din cisteină, prin oxidarea grupării SH' în SO_3H_2 și decarboxilarea cisteinei, se formează taurina, care se cuplează cu acizii biliari sub formă de acid taurocolic. Cisteina și deci și cistina sînt aminoacizi parțial esențiali, deoarece pot fi înlocuiți în alimentația animalelor prin metionină, din care cisteina poate fi sintetizată. Acești aminoacizi au o importanță biologică deosebită nu numai prin participarea lor în numeroase procese oxidoreducătoare, ci și prin rolul pe care îl au în determinarea structurilor anumitor tipuri de proteine. Vom vedea mai departe că legăturile de sulf —S—S—, care în molecula proteinelor provin din cistină, joacă un rol important în structura moleculelor acestora (de exemplu keratina din păr și piele și alte scleroproteine). De asemenea, gruparea SH a enzimelor, care derivă din cisteină, are un rol în activitatea catalitică a acestora. Într-adevăr, dacă grupările—S—S—din molecula enzimei sînt blocate, de exemplu cu metale grele, activitatea enzimatică nu mai are loc.

Metionina, sau acidul γ-metiltio-α-aminobutiric, a fost izolată pentru prima dată din hidrolizatele de cazeină. Ea se găsește în numeroase proteine vegetale și animale. A fost pusă în evidență în stare liberă în semințele unor ierburi. Metionina este un aminoacid esențial pentru organismele animale. Importanța ei biologică rezidă în proprietatea de a participa la așa-numitele reacții de metilare biologică. Radicalul metil (CH_3), fixat la atomul de sulf al metioninei, poate fi transferat pe o serie de compuși acceptori ai acestei grupări. Prin acest mecanism de transmetilare are loc biosinteza unor compuși indispensabili pentru organismele vii, ca, de pildă, creatina, colina, betaina și adrenalina.

Acidul aspartic (*asparagic*), sau α-aminosuccinic, există în natură în special sub forma unei amide, asparagina, din care a fost preparat pentru prima oară. Acidul aspartic participă la formarea proteinelor vegetale și animale cu caracter neutru și acid. În proteinele vegetale, acidul aspartic se găsește în cantități relativ mari în edestină, glicinină și alte proteine. El constituie o componentă-cheie în metabolismul azotat. Așa cum vom vedea la capitolul care tra-

Scanned with OKEN Scanner

tează despre metabolismul proteinelor, acidul aspartic, împreună cu acidul glutamic, controlează acest metabolism, participînd la biosinteza bazelor azotate care intră în structura acizilor nucleici, a ureei, a treoninei, alaninei etc. Amida acidului aspartic, asparagina, se găsește îndeosebi în plante și deține rolul de rezervor de grupări aminice.

Acidul glutamic, sau acidul α-aminoglutaric, a fost descoperit în hidrolizatele de gluten. El intră în constituția proteinelor animale și vegetale cu caracter neutru. În cantitate mai mare se găsește în holoproteinele simple din semințe de cereale. Acidul glutamic se găsește liber în organismul animal, în plante, iar în cantitate mare în alge.

Glutamina este monoamida acidului glutamic, care, ca și amida acidului aspartic, reprezintă substanța de rezervă pentru grupările amidice. Acidul D-glutamic este aminoacidul cel mai des întîlnit din seria D. A fost pus în evidență în substanța capsulară a unor bacterii cărbunoase, ca și în hidrolizatele unor proteine vegetale, ca, de exemplu, în gliadină, în edestină, în hordeină. Acidul D-glutamic se găsește în proteinele din tumorile canceroase.

Acidul glutamic este important nu numai pentru metabolismul proteic, ci și pentru celelalte forme de metabolism, deoarece prin reacțiile de transaminare la care participă reprezintă o punte de legătură între diferite căi metabolice.

Arginina, sau acidul α-amino-δ-guanidin-valerianic, este prezentă în toate proteinele. A fost pusă în evidență pentru prima oară în unele plante. În regnul vegetal se găsește în cantitate mai mare în edestină, în globulinele din semințele de tutun și în alte proteine. Arginina are o mare importanță biologică, intrînd în ciclul reacțiilor de formare a ureei. Așa cum vom vedea în capitolul care tratează despre metabolismul proteic, arginina se transformă, sub acțiunea catalitică a unei enzime numite arginază, în ornitină și uree. Arginina este un aminoacid esențial.

Lizina, sau acidul ε-diamino-caproic, a fost extrasă din hidrolizatele de cazeină. Este un aminoacid esențial, care intră în compoziția multor proteine animale și vegetale. S-a constatat însă că unele proteine vegetale, ca, de exemplu, zeina și hordeina, nu conțin lizină, de unde și valoarea biologică scăzută a acestor proteine. Prin decarboxilarea lizinei sub acțiunea unor enzime microbiene se formează o amină toxică, numită cadaverină.

Fenilalanina, sau acidul α-amino-β-fenilpropionic, intră în constituția aproape a tuturor proteinelor. Este un aminoacid esențial,

Scanned with OKEN Scanner

important din punct de vedere biologic în special pentru că reprezintă materia primă din care se sintetizează hormonii tiroidieni, precum și cei ai medulosuprarenalei.

Tirozina, sau acidul α-amino-β-parahidroxifenil-propionic, descoperită pentru prima dată în produșii de hidroliză ai cazeinei, intră în constituția celor mai multe proteine. Ea se găsește în cantitate relativ mare în proteinele din porumb, pepeni, dovleci și alte proteine vegetale. Tirozina este un derivat hidroxilat al fenilalaninei, deci are în structura ei un fenol, singurul fenol care intră în structura proteinelor. Din tirozină derivă o serie de compuși de mare importanță biologică, ca, de exemplu, adrenalina, hormonul secretat de partea medulară a glandei suprarenale; tiroxina, hormonul secretat de glanda tiroidă; tiramina, substanță care ia naștere din decarboxilarea tirozinei și are rol în fiziologia vasculară.

Triptofanul, sau acidul β-indol-α-amino-propionic, descoperit în hidrolizatele diferitelor proteine, este unul dintre cei mai importanți aminoacizi care intră în structura proteinelor naturale, vegetale și animale. În organele tinere ale plantelor, triptofanul se găsește și în stare liberă. Este greu izolabil din proteine, deoarece prin hidroliza acidă a acestora triptofanul este transformat într-un amestec de produși greu solubili și deci greu de separat. El poate fi izolat totuși din proteine prin hidroliză enzimatică sau cu ajutorul hidroxidului de bariu. Prin oxidare, triptofanul se transformă în acid indolacetic. A fost sintetizat prin condensarea aldehidelor, pornindu-se de la p-oxi-benzaldehidă. În intestinul organismelor animale și la om, triptofanul este transformat în indol și scatol.

Triptofanul are o mare importanță biologică, fiind un precursor al acidului nicotinic, care, la rîndul lui, participă la biosinteza celor două coenzime ale dehidrogenazelor, și anume nicotinadenindinucleotid (NAD) și nicotinadenindinucleotidfosfat (NADP).

Histidina, sau acidul α-amino-β-imidazol propionic, a fost descoperită în protamina din sperma de pește. Este un aminoacid parțial esențial, care intră în compoziția aproape a tuturor proteinelor vegetale și animale. Se găsește în cantitate mare în globina din hemoglobină, în sturină, edestină, globulinele din semințele de tomate și altele. În cantități mici se găsește și liberă în diferite organe vegetale. Prin decarboxilare, histidina se transformă în histamină, amină importantă din punct de vedere fiziologic.

Prolina, sau acidul pirolidin-α-carboxilic, și *hidroxiprolina*, derivatul său hidroxilat, se deosebesc de ceilalți aminoacizi prin fap-

Scanned with OKEN Scanner

tul că gruparea α-aminică este inclusă în inelul ciclic. Prolina a fost pusă în evidență pentru prima dată în hidrolizatele de cazeină. Se găsește aproape în toate proteinele vegetale și animale. În cantitate mare se găsește în prolaminele din cereale, iar în unele țesuturi vegetale și animale se poate întîlni și în stare liberă. Ea se deosebește ca solubilitate de ceilalți aminoacizi prin faptul că este solubilă în alcool. Hidroxiprolina a fost găsită pentru prima dată în hidrolizatele de gelatină. Ca și prolina, hidroxiprolina participă la formarea multor proteine vegetale și animale.

Proteinele, substanțe organice complexe macromoleculare. Legătura dintre structura chimică și funcție

Noțiunea de albumină sau proteină a fost interpretată în mod diferit în cursul istoriei sale. Astfel, mulți cercetători din secolul trecut și din secolul nostru acordă acestei noțiuni o semnificație pur chimică, iar alții una mai mult biologică. La început s-a dat numele de albumină substanței din oul de găină (albuș), care prin încălzire coagula, devenind albă. Pe măsură ce cunoștințele de chimie s-au îmbogățit și alte substanțe au fost incluse în grupa albuminelor, alături de cele asemănătoare cu albușul de ou, fără să se prevadă importanța lor pentru procesele vitale. În acea vreme se considera că substanțele asemănătoare din punct de vedere al proprietăților fizice și chimice cu albușul de ou sînt produși specifici ai anumitor organisme și că lipsesc din plante. Pe măsură însă ce cercetările făcute în studiul substanțelor chimice din organismele vii au obținut date noi, acestea au arătat că albuminele sînt răspîndite în toate organismele, că între aceste substanțe și procesele vitale din organismele vii există o strînsă legătură. Aceasta a determinat ca în cel de-al treilea deceniu al secolului trecut albuminele să fie denumite proteine, ceea ce în limba greacă înseamnă „cele mai importante“ ; prin această nouă denumire se atribuia acestor substanțe o semnificație cu precădere biologică, considerîndu-se că albumina este cea mai importantă componentă a materiei vii.

Mai tîrziu, pe la mijlocul secolului trecut, proteinele au atras în mod deosebit atenția biologilor, care începuseră să considere tot mai mult că ele sînt componenta cea mai importantă din conținutul gelatinos al celulei, denumită de către Mohl protoplasmă. Rolul bio-

Scanned with OKEN Scanner

logic al proteinelor ca suport material al vieții devenea tot mai evident, ceea ce a determinat pe unii cercetători din a doua jumătate a secolului trecut să confunde noțiunile de protoplasmă cu cea de „proteină" și să considere că cele mai simple organisme vii nu sînt decît aglomerări de substanțe proteice.

Chimia proteinelor era încă la începutul dezvoltării ei, de aceea nu se cunoștea nici structura și nici compoziția proteinelor. Abia la începutul secolului al XX-lea s-a putut demonstra că proteinele sînt formate din aminoacizi, dar au mai fost necesare încă aproape două decenii pînă cînd s-a stabilit definitiv rolul aminoacizilor în structura proteinelor. Asemenea biologilor din vremea sa, Engels a folosit termenul de protoplasmă și de corp albuminoid ca expresii sinonime. De aceea noțiunea de albumină folosită de Engels nu poate fi identificată cu nici una dintre proteinele individualizate din punct de vedere chimic pe care chimia și biochimia modernă au izbutit să le izoleze din organismele vii. Engels spunea: „Oriunde întîlnim viață, o găsim legată de un corp albuminoid și oriunde întîlnim un corp albuminoid care nu se află în stare de descompunere găsim, fără excepție, fenomene de viață"[1].

În lumina cunoștințelor actuale de chimie, proteinele sînt considerate combinații chimice organice complexe bine determinate, rezultate din condensarea aminoacizilor. Așa cum vom vedea mai departe, de structura acestor combinații depind o serie de proprietăți biologice deosebit de importante.

La sfîrșitul secolului trecut, numeroși autori, identificînd protoplasma cu proteinele, au emis ideea așa-numitei molecule proteici vii, conform căreia protoplasma celulară este o substanță chimică unică, o moleculă de proteină uriașă, înzestrată cu viață, sau un mediu specific, un amestec de compuși lipsiți de viață, în care sînt incluse niște particule vii, ipotetice, niște molecule de proteină a căror structură chimică include toate tainele vieții. Desigur, asemenea particule sînt imaginare, existența lor nefiind dovedită de nimeni. În chimia și biologia contemporană există mai multe păreri cu privire la ceea ce trebuie să înțelegem prin noțiunea de proteină sau de albumină.

Unii autori au dat o definiție pur chimică proteinelor, considerîndu-le substanțe organice macromoleculare, alcătuite din diferiți aminoacizi. Definiția pur chimică este însă unilaterală, deoarece ea

---

[1] F. Engels, *Dialectica naturii*, în K. Marx și F. Engels, *Opere*, vol. 20, Editura Politică, 1964, p. 81

ignorează importantele proprietăți biologice cu care sînt înzestrate toate proteinele din natura vie, proprietăți legate de particularitățile structurii lor specifice. Definiția pur chimică încadrează în categoria proteinelor și substanțe care nu au o însemnătate biologică directă. Pe de altă parte, concepția amintită mai sus despre molecula proteică vie este lipsită de conținut chimic. Adepții acestei concepții atribuie moleculei de proteină toate manifestările vitale, ca metabolism, autoreproducere etc., fără însă să explice legătura dintre aceste proprietăți biologice și așezarea specifică a atomilor în ipotetica moleculă vie (Oparin).

În zilele noastre, studii aprofundate asupra structurii și funcțiilor proteinelor efectuate cu ajutorul unor metode și tehnici avansate de investigație au permis să se cunoască multe caracteristici de ordin fizic, chimic și biologic ale acestor substanțe organice.

Să vedem care este conținutul noțiunii de proteină în concepția actuală și care sînt în fond caracteristicile fizico-chimice și biologice ale acestor substanțe de importanță primordială pentru viață.

Nomenclatura modernă a albuminelor sau a substanțelor proteice se prezintă după schema de mai jos :

Protide
1) aminoacizi,
2) peptide (dipeptide, tripeptide, polipeptide),
3) proteide
   a) holoproteide sau proteine,
   b) heteroproteide sau proteide.

Așadar, în grupa protidelor intră aminoacizii, peptidele și proteidele, care, la rîndul lor, se împart în holoproteide sau proteine și heteroproteide sau proteide. Prin hidroliză, atît peptidele, holoproteidele, cît și heteroproteidele pun în libertate aminoacizi. În afară de aminoacizi, heteroproteidele conțin în molecula lor și alți compuși, și anume zaharuri, acid fosforic, acizi nucleici, clorofilă, porfirine etc. Prin urmare, în grupa protidelor sînt incluși convențional toți compușii chimici care prin hidroliză acidă, bazică sau enzimatică eliberează aminoacizi, precum și aminoacizii înșăși.

Din schema de mai sus rezultă de asemenea că termenul de proteine este sinonim cu cel de holoproteide. În lucrarea de față vom folosi termenul de proteine în locul celui de proteide, deoarece în majoritatea lucrărilor de specialitate acești termeni sînt sinonimi. Ca atare, vom deosebi holoproteide sau proteine simple, substanțe formate exclusiv din aminoacizi, și heteroproteide sau proteine conjugate, substanțe formate în afară de aminoacizi și din alți compuși, care poartă numele de *grupare prostetică*.

Scanned with OKEN Scanner

Proteinele sînt substanțe organice complexe, macromoleculare, formate din carbon, azot, oxigen și hidrogen. Marea majoritate a proteinelor conțin, pe lîngă elementele de bază menționate mai sus, sulf și fosfor. Unele proteine au în molecula lor metale, cum ar fi Fe, Mn, Zn, Cr, Co etc. Azotul este un element de bază al proteinelor, fapt care a făcut ca acestea să fie denumite și substanțe azotate. Compoziția procentuală a diferitelor elemente care intră în constituția proteinelor variază în limite relativ restrînse : carbon (50—55%), oxigen (20—25%), azot (15—19%), hidrogen (6,5—7,5%), sulf (0,5—2,4%), fosfor (0,4—0,9%).

Proteinele sînt constituite din aminoacizi legați între ei prin legături peptidice, formînd *lanțuri polipeptidice*, care, la rîndul lor, prin pliere și înfășurare formează structura macromoleculară caracteristică acestor substanțe.

Structura macromoleculei proteice, modul în care sînt așezați atomii, grupurile de atomi și aminoacizii determină proprietățile fizice, chimice și biologice ale diferitelor proteine, interacțiunea dintre proteine și ceilalți compuși care alcătuiesc substanța vie. Proteinele simple și conjugate sînt cele mai complexe combinații de atomi și molecule, sînt substanțele cu cea mai complicată organizare moleculară și intramoleculară. De structura macromoleculei proteice sînt strîns legate aproape toate însușirile biologice ale materiei vii, indiferent de treapta de organizare, de locul pe care-l ocupă organismul viu în scara evolutivă.

Una dintre proprietățile biologice fundamentale ale proteinelor este *specificitatea* lor, fiecare specie animală sau vegetală și chiar fiecare organ sau țesut avînd proteinele sale proprii, care se deosebesc de proteinele altor specii, organe sau țesuturi. Diversitatea formelor pe care le îmbracă materia vie este strîns legată de diversitatea proteinelor specifice. Capacitatea organismelor vii, începînd de la cele mai simple pînă la cele mai complexe de a sintetiza aceleași proteine specifice în succesiunea de generații explică diferențierea speciilor animale și vegetale din natura vie.

Să vedem acum care sînt concepțiile moderne asupra structurii proteinelor. Majoritatea cercetătorilor consideră să structura macromoleculei proteice comportă trei trepte de organizare, și anume : structura primară, secundară și tertiară. În ce constă aceste trepte? La începutul capitolului am arătat că proteinele sînt constituite din aminoacizi, că aminoacizii se leagă între ei prin intermediul legăturilor peptidice (-CO-NH-), formînd di-, tri- și polipeptide, adevărate lanțuri sau catene în lanț deschis, mai scurte sau mai lungi,

Scanned with OKEN Scanner

în raport cu numărul aminoacizilor componenți (fig. 6.). Fiecare aminoacid constituie una dintre verigile acestui lanț. *Structura primară* a moleculei proteice corespunde organizării intracatenare în lanț deschis sau în ciclu ori celei în care lanțul deschis alternează cu ciclul.

Dar catena sau lanțul polipeptidic nu rămîne ca atare în cadrul macromoleculei proteice, ci se pliază, se răsucește datorită stabilirii unor anumite tipuri de legături între diferitele zone ale lanțului polipeptidic, legături cu alt caracter decît cele peptidice. Această pliere sau înfășurare corespunde celei de-a doua trepte de organizare a moleculei proteice, și anume *structurii secundare*.

Dar proteinele nu se comportă însă ca simple catene peptidice liniare sau ciclice, pliate sau înfășurate. S-a constatat că majoritatea proteinelor conțin mai mult decît o singură catenă peptidică în moleculă. Fiecare catenă poate fi pliată sau înfășurată, răsucită, dar aceste catene se unesc la rîndul lor între ele, constituind macromolecula proteică, cu caracteristicile ei fizico-chimice și biologice, specifice fiecărei proteine în parte. *Structura terțiară* a moleculei proteice corespunde legăturilor de tip special care se stabilesc între diferitele lanțuri sau catene polipeptidice vecine din constituția moleculei de proteină.

Structura primară a lanțurilor sau a catenelor polipeptidice corespunde caracterului legăturilor și succesiunii elementelor structurale, adică succesiunii aminoacizilor din molecula proteică.

În fig. 6 este prezentat schematic un lanț polipeptidic. Se observă că la o extremitate a lanțului polipeptidic se găsește funcția carboxilică (COOH) liberă, necombinată sau nelegată, iar la cealaltă extremitate funcția aminică (NH_2). Aminoacidul terminal, care are gruparea carboxilică liberă, se numește *aminoacid C-terminal*, iar aminoacidul care are gruparea aminică liberă poartă numele de *aminoacid-N-terminal*.

Un lanț polipeptidic poate avea aminoacizi terminali liberi numai dacă lanțul este deschis. În cazul cînd polipeptidul nu este format dintr-un singur lant sau catenă liniară, ci are mai multe ramificații colaterale, el va avea mai mulți aminoacizi terminali. Dacă catena formează un ciclu închis, fără ramificații colaterale, nu există aminoacizi terminali.

Cunoașterea numărului de aminoacizi terminali este deosebit de importantă, deoarece ea dă indicații asupra organizării moleculei proteice și comportării fizico-chimice a ei.

Scanned with OKEN Scanner

Radicalii R_1, R_2, R_3, R_4, reprezentați în figura 6, sînt diferiți în raport cu acizii aminați care intră în structura lanțului polipeptidic, ca, de exemplu, $-CH_2-OH$ în cazul serinei, $-CH_2-SH$ în cel al cisteinei, $-CH_2-COOH$ în cel al acidului asparagic etc. Acești radicali sînt *catene laterale*, adică grupări atomice libere ale resturilor de aminoacizi care îndeplinesc funcții chimice foarte variate (fenoli, acizi, alcooli, tioli, baze). Funcțiile bazice din molecula lizinei, argininei și histidinei, ca și al doilea carboxil din molecula acizilor glutamic și aspartic, nu participă la formarea legăturilor peptidice din molecula de proteine, rămînînd ca funcții libere.

Resturile de aminoacizi joacă un rol important în comportarea fizică, chimică și biologică a proteinelor, atît datorită lungimilor diferite, cît mai ales grupărilor chimice active : OH, SH, NH_2, COOH, CH_3 etc.

Într-adevăr, comportările fizice și chimice ale proteinelor atît *in vivo* cît și *in vitro* sînt determinate de prezența grupărilor funcționale libere, adică de resturile de aminoacizi. Astfel, *solubilitatea proteinelor* în apă, care în condiții determinate în mare parte de pH și de salinitate constituie o caracteristică pentru fiecare proteină în parte, depinde în mare măsură de prezența grupărilor hidrofile libere ($-COOH$, $-NH_2$, $-OH$). Aceste grupări influențează gradul de solubilitate, din cauză că au proprietatea de a fixa apa producînd hidratarea proteinelor. Această fixare are la bază interacțiunea dintre moleculele de apă și grupările funcționale polare ale proteinei. Legăturile dintre grupările polare ale apei și cele ale macromoleculei proteice sînt de natură electrostatică. Studiile cu radiații X au arătat că moleculele de apă se fixează atît de grupările ionizate, cît și de legăturile peptidice (în ultimul caz, probabil, prin legături de hidrogen). Așadar, hidrofilia coloizilor proteici se poate explica prin procesele de hidratare a macromoleculelor proteice. Concentrația ionilor de hidrogen din mediu (pH) influențează solubilitatea proteinelor, aceasta fiind minimă la punctul izoelectric. Solubilitatea proteinelor în apă poate fi modificată de diferitele săruri, unele mărind-o, altele micșorînd-o. În concentrații mari, sărurile neutre micșorează solubilitatea proteinelor pînă la precipitarea acestora. Unele proteine insolubile în apă devin solubile în soluții saline. Astfel, globulinele pot fi solubilizate prin adăugarea de clorură de sodiu.

Precipitarea proteinelor cu soluții concentrate de săruri neutre s-ar datora unei modificări a hidratării macromoleculei proteice de către moleculele saline (dezhidratare), care sustrag moleculele

Scanned with OKEN Scanner

de apă din jurul moleculei proteice, insolubilizînd-o. Adaosul de săruri la soluțiile proteice nu modifică profund structura moleculară a proteinei, ci numai legătura acesteia cu moleculele de apă, fapt care explică reversibilitatea procesului. Solvenții organici miscibili cu apa, ca alcoolul etilic, acetona, alcoolul metilic, precipită proteinele din soluțiile apoase, fenomen ce poate fi intensificat de prezența unor săruri. Diferitele tipuri de proteine prezintă solubilități diferite în raport cu factorii enumerați mai sus.

Caracterul amfoter al soluțiilor proteice se datorează prezenței în molecula proteinelor a radicalilor carboxilici și aminici liberi aparținînd aminoacizilor constituenți, care fac ca în mediul acid, proteinele să se comporte ca baze slabe, iar în mediul bazic ca acizi slabi. Atît grupările aminice și carboxilice libere de la capetele catenelor polipeptidice, cît și cele bazice ale diaminoacizilor (arginina, lizina, histidina) și acide ale aminoacizilor dicarboxilici (acidul glutamic și acidul aspartic), neangajate în legături peptidice, conferă proteinelor proprietatea de a se comporta diferit în raport cu concentrația ionilor de hidrogen din soluție. De asemenea, gruparea hidroxilică a serinei, gruparea guanidinică a argininei și cea ε-aminică a lizinei imprimă un caracter amfolit moleculei proteice.

În medii puternic acide, proteinele se încarcă electric pozitiv și invers, în mediu puternic alcalin se încarcă negativ. Această proprietate a proteinelor explică două fenomene importante : *funcția de sistem-tampon* a proteinelor și migrarea acestora într-un cîmp electric. Proprietatea de a forma sisteme-tampon constituie una dintre funcțiile biologice de bază ale proteinelor. Datorită acestei însușiri, ele intervin în menținerea echilibrului acido-bazic în organism.

Proprietatea particulelor coloidale proteice de a migra într-un cîmp electric se datorește încărcării pozitive sau negative a acestora. Pe această însușire se bazează metoda electroforetică de separare a diferitelor fracțiuni proteice dintr-un mediu complex care conține proteine în soluție coloidală (ser, urină, exsudate, transsudate). Ca și în cazul aminoacizilor, fiecare proteină are o zonă de pH al mediului în care sarcinile pozitive sînt egale cu cele negative, numită *punct izoionic*. La pH-ul care definește punctul izoionic, particulele proteice coloidale nu migrează în cîmpul electric, de unde denumirea de *punct izoelectric*.

La punctul izoelectric, numărul grupărilor acide libere (care se încarcă negativ) din molecula de proteină este aproximativ egal cu numărul grupărilor bazice libere (care se încarcă pozitiv), de aceea

Scanned with OKEN Scanner

încărcătura electrică a moleculei devine egală cu zero, iar particula sau molecula nu mai migrează în cîmpul electric. Punctul izoelectric reprezintă o constantă fizică caracteristică fiecărei proteine în parte. În soluții coloidale, cu pH sub punctul izoelectric, proteina disociază ca un ion încărcat pozitiv, migrează în cîmpul electric către polul negativ și se comportă ca o bază care se combină cu ioni negativi, formînd săruri, și invers.

Punctele izoelectrice ale diferitelor proteine se situează în zona de pH acid, neutru sau alcalin, în raport cu numărul de grupări acide sau bazice predominante. Astfel, proteinele cu mai multe grupări acide (care conțin în molecula lor mai mult acid glutamic și aspartic) au punctul izoelectric la un pH acid și, invers, proteinele cu mai multe grupări bazice (bogate în arginină, histidină și lizină) au punctul izoelectric la un pH alcalin. La punctul izoelectric, stabilitatea soluției coloidale este minimă, în unele cazuri producîndu-se chiar *floculareа*, iar viscozitatea și presiunea osmotică devin și ele minime.

Cînd sînt tratate cu diferiți reactivi (sulfat de cupru, ninhidrină, acid azotic, azotat mercuric, acid glioxilic etc.), proteinele, ca și produșii lor de hidroliză, dezvoltă culori caracteristice. Majoritatea *reacțiilor de culoare* depinde de natura chimică a aminoacizilor care intră în constituția moleculei proteice. Astfel, reacția xantoproteică (încălzirea cu acid azotic dă coloratie galbenă) pune în evidență prezența unuia sau a mai multor aminoacizi aromatici, reacția Millon (încălzirea cu nitrat mercuric în acid azotic dă coloratie cărămizie) pune în evidență prezența tirozinei, iar reacția Adamkiewicz-Hopkins-Cole (proteină plus acid glioxilic dă culoare violetă) pune în evidență prezența triptofanului. La fel, reacția Sakaguki (α-naftol și hipobromit de sodiu plus proteină dă coloratie roșie) indică prezența argininei, iar reacția cu nitroprusiat pune în evidență existența grupărilor -SH din molecula cisteinei. Așadar, aceste reacții de culoare nu sînt specifice moleculei proteice ca atare, ci unor anumiți aminoacizi din structura acestora.

Reacția biuretului este comună tuturor proteinelor; ea pune în evidență prezența legăturilor peptidice din structura moleculară a acestora. Această reacție este pozitivă și în cazul oligo- și polipeptidelor. Cu excepția serinei și a treoninei, aminoacizii nu dau reacție de culoare cu sulfatul de cupru (reacția biuretului).

Reacția cu ninhidrină este pozitivă în cazul tuturor proteinelor și a tuturor α-aminoacizilor, ca și în prezența altor compuși care conțin în molecula lor cel puțin o grupare carboxilică liberă și o gru-

Scanned with OKEN Scanner

pare aminică liberă. Această reacție este deosebit de sensibilă chiar pentru cantități extrem de mici de proteine (10—15 γ de acizi aminați).

Deși în natura vie există aproape o sută de aminoacizi, numai o parte dintre ei intră în structura moleculelor proteice. Cercetările privitoare la aminoacizii care intră în constituția proteinelor naturale au arătat că proteinele animalelor și plantelor superioare cuprind o gamă foarte limitată de aminoacizi. Este interesant faptul că numărul așa-numiților aminoacizi obișnuiți, adică al aminoacizilor întîlniți frecvent în proteine, nu numai că nu sporește, dar are chiar tendința să se reducă. În tabelul 1 sînt reprezentați cei 20 de aminoacizi care intră în constituția proteinelor.

De ce varietatea infinită a proteinelor existente în organismul plantelor și al animalelor actuale este constituită dintr-un număr atît de mic de elemente de bază, adică numai din 20 de aminoacizi din cei 100 cunoscuți? După Oparin, aceasta s-ar datora faptului că în procesul apariției și evoluției proteinelor a avut loc o selecție riguroasă a aminoacizilor necesari vieții, funcțiile chimice discutate mai sus dovedindu-se cu totul suficiente pentru cataliza și coordonarea tuturor reacțiilor metabolice.

Combinîndu-se în diferite variante, cei 20 de aminoacizi formează toate enzimele necesare catalizei biologice și celorlalte mecanisme chimice din interiorul protoplasmei vii. Desigur, în procesul evoluției materiei vii a avut loc o oarecare uniformizare a acestor mecanisme.

Sub acțiunea selecției naturale, toți aminoacizii care nu au fost absolut necesari pentru viață au dispărut în generațiile următoare. Ideea uniformizării compoziției în aminoacizi a proteinelor în procesul evoluției organismelor superioare își găsește confirmarea și în faptul că alături de aminoacizii obișnuiți, care se întîlnesc frecvent în compoziția proteinelor, la organismele aflate pe treptele inferioare ale evoluției (bacterii, ciuperci) se descoperă mereu noi aminoacizi. Aceștia sînt așa-numiții aminoacizi ocazionali, neobișnuiți, ca, de exemplu, β-tio-valina, acidul diaminopimelic, α-aminobutiric etc. De asemenea, în proteinele și polipeptidele organismelor inferioare, și îndeosebi în antibioticele secretate de acestea, au fost găsite și formele dextro nestandardizate ale aminoacizilor, ca, de exemplu, acidul D-glutamic, D-leucina, D-fenilala-

Scanned with OKEN Scanner

nina, D-prolina, D-alanina și altele. La organismele superioare însă se găsesc numai formele L(+) sau L(—).

Prin urmare, în procesul evoluției lumii vii, al trecerii de la formele inferioare, cu metabolismul imperfect organizat, la formele superioare, unde metabolismul a atins un grad înalt de perfecționare, are loc o standardizare a compoziției proteinelor în aminoacizi, realizată pe baza principiului selecției naturale. Acest fapt arată că una dintre însușirile de bază ale proteinelor vegetale și animale, și anume compoziția lor în aminoacizi, nu este determinată exclusiv de legile fizice și chimice, ci și de cele biologice.

Structura proteinelor se deosebește radical de structura altor produși organici de condensare, ca, de exemplu, de celuloză sau de cauciuc, în ale căror molecule se repetă mereu aceleași grupări atomice, în speță aceiași radicali de glucoză sau de izopren. Molecula proteică reprezintă și ea un produs de condensare, dar nu a unui singur compus, ci, așa cum am văzut mai înainte, a cel puțin 20 de compuși, respectiv aminoacizi. Numărul aminoacizilor din molecula unei proteine este de ordinul sutelor sau miilor, de aceea izomerii care se pot obține teoretic dintr-un număr oarecare de aminoacizi, prin variația succesiunii acestora în lanțul polipeptidic, sînt extrem de numeroși.

Dacă distribuirea aminoacizilor de-a lungul lanțului peptidic din proteinele native nu ar fi supusă nici unei reguli, atunci nu ar exista în natură proteine identice. De aceea nu e de mirare că ordinea aminoacizilor în lanțul peptidic al proteinelor native sau ale polipeptidelor mai importante din punct de vedere biologic a atras de multă vreme atenția cercetătorilor.

Folosind metoda hidrolizei parțiale, precum și identificarea aminoacizilor terminali cu ajutorul cromatografiei, biochimia modernă a reușit să stabilească cu precizie succesiunea aminoacizilor în lanțul polipeptidic al cîtorva polipeptide și proteine. Prima încercare a fost efectuată pe o protamină izolată din sperma de scrumbie (clupeină). În molecula acestei proteine intră doar 33 de aminoacizi, și anume 22 de molecule de arginină, două molecule de alanină, două molecule de serină, trei molecule de prolină, trei molecule de valină și o moleculă de oxiprolină. Numărul relativ mic de aminoacizi a înlesnit considerabil studierea acestei proteine. După Felix, autorul primelor determinări a secvenței aminoacizilor din clupeină, aminoacizii cuprinși în lanțul peptidic al acestei proteine alternează destul de regulat; patru grupări argininice dispuse consecu-

Scanned with OKEN Scanner

tiv în lanț alternează cu doi alți aminoacizi, după care urmează alte patru grupări argininice etc.

Succesiunea aminoacizilor, succesiune care se repetă cu exactitate matematică în moleculele proteinelor, conferă acestora o însușire biologică fundamentală, și anume proprietatea de a fi specifice. Din cauza acestei succesiuni, molecula proteică a fost comparată cu un text în care fiecare literă (mai exact fiecare semn tipografic) reprezintă unul dintre aminoacizi.

În molecula fiecărei substanțe proteice este reprodusă o anumită structură, fapt care explică o serie de funcții ale proteinelor, și în primul rînd pe cele enzimatice, de care sînt legate aproape toate reacțiile metabolice. După cum se știe, funcția proteinelor-fermenți constă în adiționarea selectivă a unei anumite substanțe din mediu și în catalizarea dirijată a transformărilor chimice a acesteia. Această selectivitate față de substanțe cu structură chimică diferită poate fi asigurată numai de proteine, care sînt reprezentate în natură printr-un număr infinit de forme, fiecare dintre aceste forme avînd o structură unică și, ca atare, însușiri unice.

Datele de imunochimie au arătat că structura proteinelor reflectă particularitățile speciei sau ale varietății, precum și specificarea organică. Desigur, astfel de însușiri sînt proprii numai structurilor extrem de complexe și de fine ale proteinelor.

Ipoteza care încearcă să explice succesiunea acizilor aminați într-o ordine specifică fiecărei proteine în parte consideră că structura lanțului polipeptidic ar fi direct determinată de structura nucleoproteinei sau a acidului nucleic care intervine în biosinteza proteică. Conform acestei ipoteze, ordinea aminoacizilor în lanțul peptidic în curs de formare s-ar stabili prin participarea directă a unor polimeri specifici preexistenți, adică a acizilor nucleici. Anumite porțiuni ale unui polimer corespund unor anumiți aminoacizi, iar totalitatea porțiunilor corespunde succesiunii caracteristice a aminoacizilor din proteina care se sintetizează.

Pentru a arăta importanța biologică pe care o are, pe de o parte, ordinea aminoacizilor în lanțurile polipeptidice, iar pe de altă parte grupările chimice libere, cu alte cuvinte radicalii din molecula proteică, vom da cîteva exemple.

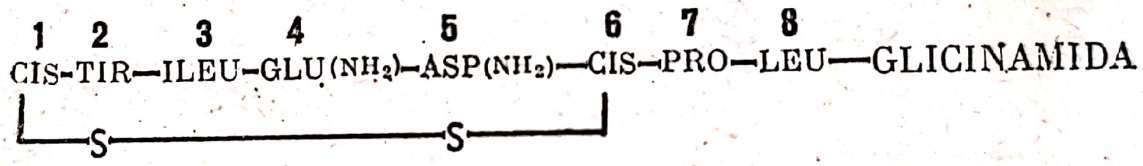
Lobul posterior al hipofizei secretă doi hormoni polipeptidici, cunoscuți sub numele de *oxitocină* și *vasopresină*, mult studiați în ultima vreme (fig. 8). Oxitocina conține în molecula sa opt aminoacizi diferiți, legați între ei prin legături peptidice, și anume : tirozină, izoleucină, prolină, acid glutamic, acid aspartic, glicocol, leu-

Scanned with OKEN Scanner

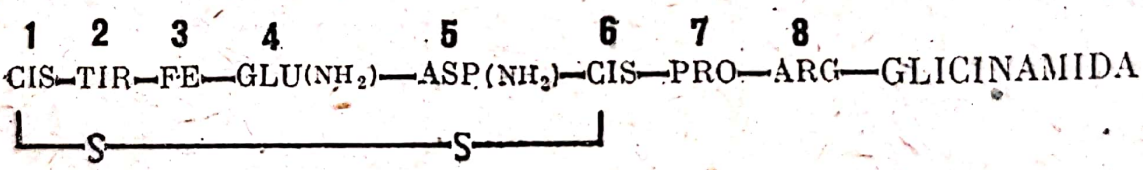
cină și cistină. Ea are trei grupări amidice libere, care provin din acizii glutamic și aspartic, ce se găsesc în moleculă sub forma amidelor respective (asparagină și glutamină), precum și din gruparea aminică liberă din glicocol, care se găsește sub formă de glicinamidă.

Vasopresina are o structură chimică analogă oxitocinei, deosebindu-se totuși de aceasta din urmă prin faptul că în loc de izoleucină conține fenilalanină, iar în loc de leucină arginină sau lizină, în funcție de specie. Vasopresina care conține arginină (argininvasopresina) a fost găsită în lobul posterior al hipofizei de la om, bovine, pisică, cîine, iepure, șobolan și alte specii. Vasopresina care conține în molecula sa lizină a fost găsită în hipofiza de porc.

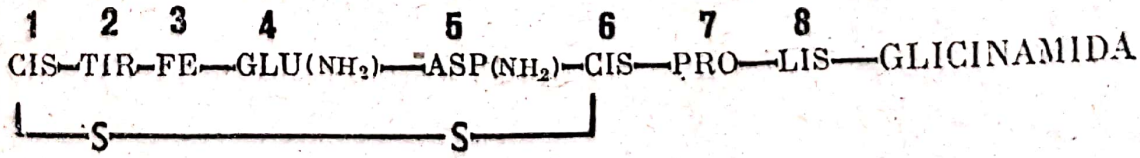
Oxitocina naturală, ca și cea sintetică, exercită o acțiune de stimulare a țesutului contractil (celulele mioepiteliale) al glandei mamare în timpul lactației. Proprietatea oxitocinei de a mări secreția de lapte este folosită la femeile care alăptează. Administrarea unor doze mici de oxitocină la femeia gravidă în ultimele luni ale



OCITOCINA

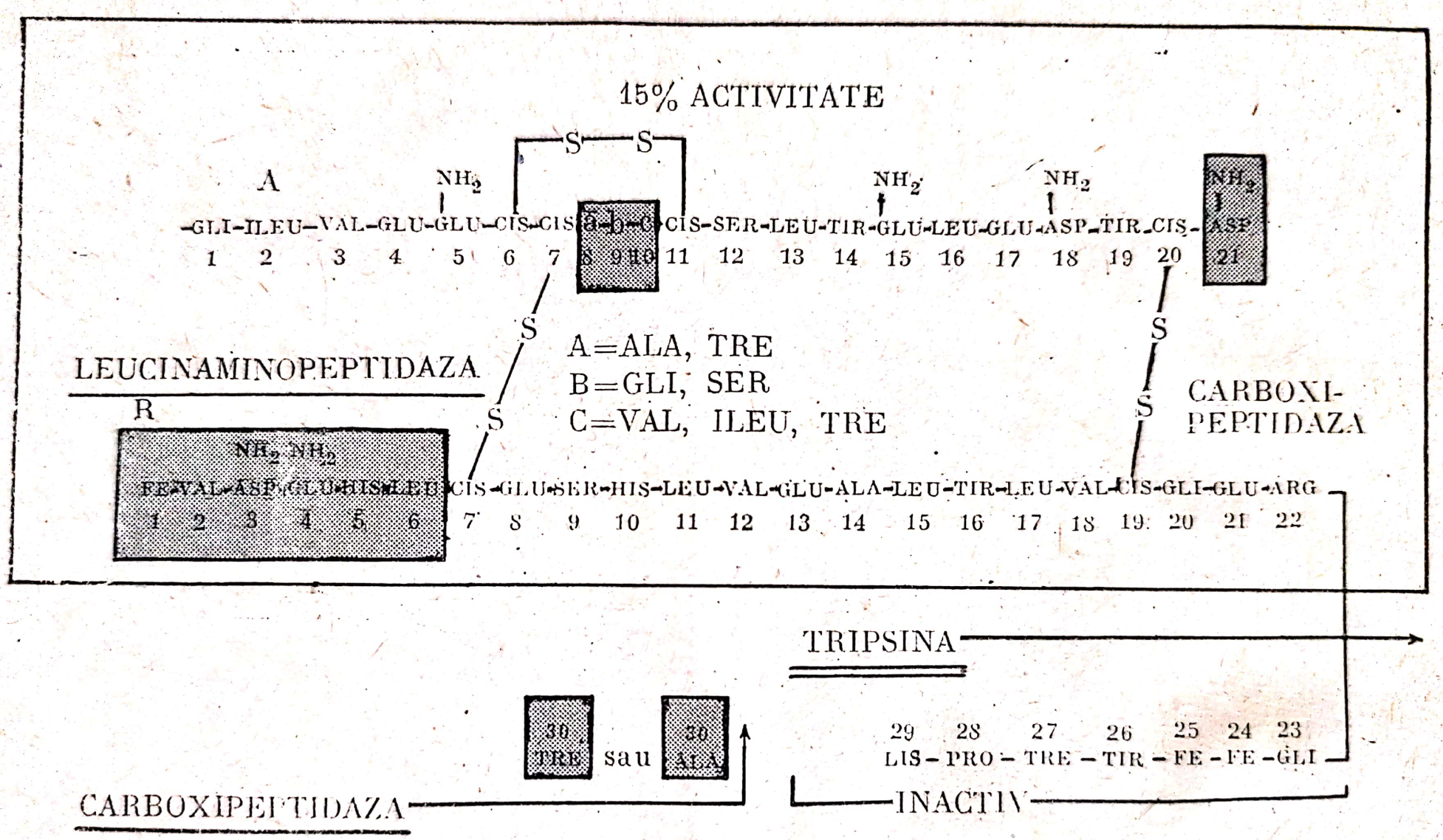


ARGININ – VASOPRESINA



LIZIN–VASOPRESINA

8. Structura ocitocinei și vasopresinei. Vasopresina se deosebește de ocitocină prin natura diferită a aminoacizilor din pozițiile 3 și 8



9. Structura insulinei. Îndepărtarea a șase resturi de aminoacizi din lanțul B prin acțiunea leucinaminopeptidazei nu influențează mult activitatea hormonului. În depărtarea aminoacidului 30 din lanțul B (alanina sau treonina) prin acțiunea carboxipeptidazei nu influențează proprietățile hormonale ale peptidului

sarcinii stimulează în mod simțitor contracția uterină, apropiind-o de aceea din perioada de început a travaliului spontan. Vasopresina are acțiune vasopresoare și antidiuretică.

Între vasopresină și oxitocină există un antagonism, cel puțin parțial, cu caracter farmacodinamic. Astfel, oxitocina micșorează efectele antidiuretice ale argininvasopresinei, iar aceasta antagonizează efectul de creștere a filtratului glomerular și a fluxului renal plasmatic determinat de oxitocină.

Numeroase studii consacrate lămuririi relațiilor dintre structura chimică și activitatea hormonală a acestor doi compuși au stabilit cu precizie rolul diferitelor funcții chimice din molecula acestora. La aceasta a contribuit obținerea pe cale sintetică a unor analogi ai oxitocinei și a unor hibrizi ai celor doi hormoni posthipofizari, ca argininvasotocina și ocipresina.

O importanță deosebită pentru lămurirea relațiilor dintre structura chimică și funcție o prezintă următoarele elemente : puntea de sulf sau disulfurică, grupările amidice, grupul fenolic al tirozinei, lanțul lateral alifatic sau aromatic din poziția 3, lanțul lateral peptidic din poziția 6 și caracterul bazic al grupării din poziția 8.

Puntea de sulf se găsește atît în molecula oxitocinei, cît și în cea a vasopresinei. Ea se stabilește între doi radicali de cisteină separați prin alți aminoacizi. De remarcat că legătura disulfurică se găsește și în molecula de insulină. Totodată s-a dovedit că molecula de oxitocină este activă din punct de vedere biologic numai sub formă oxidată (prezența legăturii disulfurice) și monomerică (preparatele polimerice cu mai multe legături disulfurice sînt inactive din punct de vedere biologic).

Mai puțin cunoscute sînt relațiile dintre prezența legăturii disulfurice și activitatea vasopresinei. În orice caz, oxitocina, în forma ei biologică activă, și vasopresina, în forma ei antidiuretic activă, presupun existența obligatorie a legăturii disulfurice, și deci a unei structuri ciclice.

Prin includerea pe cale sintetică a unor aminoacizi suplimentari în ciclu se obțin omologi ai oxitocinei cu 23 de atomi în loc de 20. Acești omologi nu mai au o activitate biologică specifică, manifestînd chiar un oarecare efect antagonic față de oxitocină. Același lucru se întîmplă dacă este scos din ciclu un aminoacid. De reținut că nu numai prezența ciclului, ci și dimensiunile acestuia au importanță în determinarea activității biologice a moleculei de oxitocină. De asemenea, ciclul simplu, fără lanțul lateral prolinic, este inactiv din punct de vedere biologic.

Scanned with OKEN Scanner

Prezența în moleculă a grupărilor amidice este absolut necesară pentru activitatea biologică a oxitocinei și vasopresinei, întrucît tratarea hormonului cu acid clorhidric diluat la cald duce la inactivarea lor. Grupările fenolice ale tirozinei sînt de asemenea necesare, întrucît atît introducerea, cît și scoaterea unei grupări fenolice din ciclu modifică activitatea oxitocinei și vasopresinei, scăzînd-o în mod simțitor.

Lanțul lateral alifatic sau ciclul aromatic din poziția 3 prezintă o importanță deosebită, deoarece înlocuirea în molecula de oxitocină a izoleucinei din poziția 3 prin fenilalanină, care se găsește în această poziție în molecula de vasopresină, intensifică activitatea vasopresoare și antidiuretică a acesteia. Înlocuirea fenilalaninei din poziția 3 a moleculei de vasopresină prin izoleucină, care se găsește în această poziție în molecula de oxitocină, determină creșterea proprietăților oxitocice ale vasopresinei.

Lanțul lateral peptidic din poziția 6 este și el absolut indispensabil activității biologice, deoarece s-a dovedit că modificarea acizilor aminați, legați de radicalul cisteinic din poziția 6, provoacă inactivarea hormonilor (ca, de exemplu, scoaterea prolinei din moleculă duce la inactivarea completă a moleculei de oxitocină).

Caracterul bazic al grupării din poziția 8 (prezența grupării aminice în această poziție) a moleculei de vasopresină joacă un rol hotărîtor în activitatea vasopresoare și antidiuretică a acestui hormon, deoarece o grupare bazică mai puternică introdusă în poziția 8 intensifică activitatea vasopresoare, în timp ce o grupare mai puțin bazică în această poziție sporește activitatea oxitocică.

Insulina, hormon de natură peptidică secretat de pancreasul endocrin, s-a obținut recent sub formă purificată și cristalizată, structura chimică a acestui polipeptid fiind pe deplin elucidată, cum se vede din figura 9.

În molecula insulinei se deosebesc două fragmente peptidice : fragmentul A, format din 21 de aminoacizi, care are caracter acid și structură elicoidală, și fragmentul B, cu caracter bazic, format din 30 de aminoacizi. Aceste fragmente sînt legate între ele prin punți de sulf.

Studii comparative ale structurii insulinei la diverse specii animale și la om au arătat că deosebirile se datoresc secvențelor diferite a celor trei aminoacizi : A_8 A_9 și A_{10} din catena A. În tabelul 2 este reprezentată compoziția în aminoacizi a insulinelor provenite de la diferite specii animale și de la om. De remarcat că succesiunea celor trei aminoacizi este identică pentru insulina de

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 2

Compoziția în aminoacizi a insulinelor provenite de la diferite specii de animale

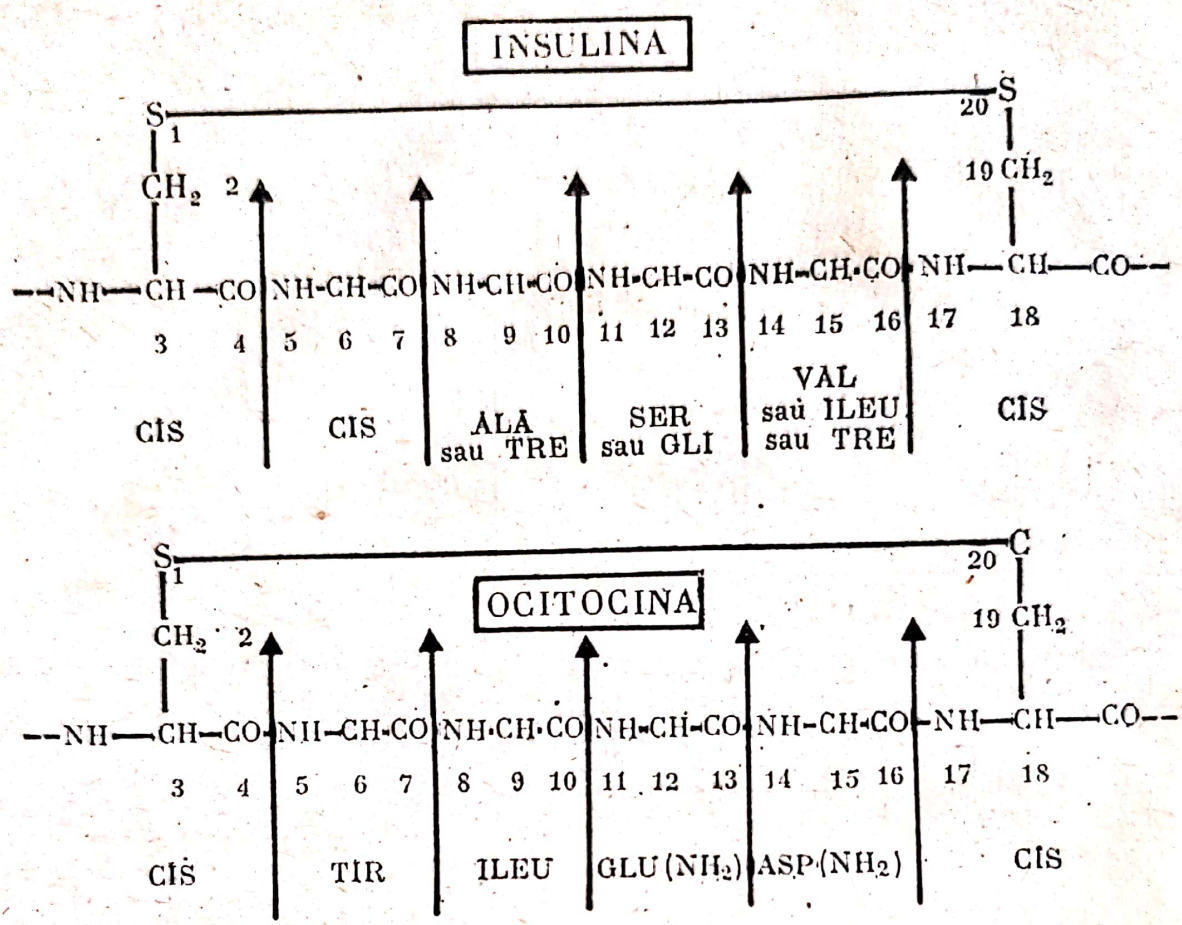
Origine	A_8	A_9	A_{10}
Oaie.....	Ala	Gli	Val
Bou	Ala	Ser	Val
Balenă.....	Ala	Ser	Tri
Om, porc	Tre	Ser	Ileu
Cal	Tre	Gli	Ileu

om și aceea de porc. Deși aceste două insuline sînt structural diferite (restul B_{30} din poziția C terminală din lanțul B este constituit din treonină la om și din alanină la celelalte specii animale), se constată totuși că insulina de porc injectată la om provoacă foarte puțini anticorpi antiinsulinici. Trebuie subliniat că insulinele diverselor specii de animale sînt constituite din catene A și B diferite atît prin compoziția în aminoacizi, cît și prin succesiunea acestora în catenă.

Cercetări efectuate în scopul stabilirii raportului dintre structura chimică, pe de o parte, și activitatea biologică a acestui hormon, pe de altă parte, au arătat că osatura geometrică de ansamblu a buclei lanțului peptidic A este foarte importantă. Din figura 10 se observă că, dacă nu se iau în considerație lanțurile laterale de aminoacizi legate de ciclu, care variază în raport cu specia, structura ciclului comportă 20 de elemente și este perfect asemănătoare cu aceea a oxitocinei și vasopresinei.

Lucrări ceva mai vechi au demonstrat că hormonul nu-și pierde activitatea biologică prin acetilarea grupărilor aminice, acțiunea fiziologică a hormonului depinzînd direct de integritatea legăturilor de sulf. Înlăturarea numai a uneia dintre cele trei legături disulfurice atrage după sine reducerea activității fiziologice cu aproximativ 90%. Îndepărtarea a șase aminoacizi din lanțul peptidic B pînă la prima legătură disulfurică, cît și înlăturarea aminoacidului din poziția 30 (treonina) a lanțului peptidic B nu influențează prea mult activitatea insulinei.

Scanned with OKEN Scanner



10. Structura insulinei comparativ cu cea a ocitocinei

Îndepărtarea celui de-al doilea acid aminat din poziția C-terminală (asparagina), care se poate efectua numai prin acțiunea carboxipeptidazei asupra insulinei acetilate, are însă o influență foarte puternică. Eliminarea prin acțiunea tripsinei a unui heptopeptid ($B_{23} - B_{29}$) duce la formarea unei insuline reziduale, cu lanț B mai scurt, format din 22 (în loc de 30) de aminoacizi, dar cu punțile de sulf intacte. Această insulină reziduală nu păstrează decît 15% din activitatea biologică inițială. În esență, activitatea biologică a insulinei depinde de integritatea legăturilor disulfurice. În stadiul actual al cercetărilor este posibilă o simplificare a moleculei sintetice a insulinei.

Insulina ocupă un loc important în reglarea proceselor metabolice de către sistemul neuroendocrin. Așa cum arătam mai sus, mecanismul de acțiune a hormonului depinde de structura sa. Inactivarea acestui hormon se poate obține cu ușurință prin intermediul

cisteinei sau al glutationului redus. Reacțiile de inactivare se desfășoară după un dublu mecanism, în felul următor :

Insulină + 2G — SH $\xrightarrow{\text{enzimă hepatică}}$ insulină redusă + G — S — S — G (1)

G — S — S — G + NADPH + H^+ $\xrightarrow{\text{glutation redus}}$ 2G — SH + + NADP (2)

După procesul de reducere, insulina, care și-a pierdut astfel puterea hipoglicemiantă, rămîne totuși capabilă de a crește coeficientul respirator al țesutului grăsos *in vitro* și de a accelera transformarea glucozei marcate în acizi grași de către țesutul adipos. De aceste două activități metabolice se face răspunzător lanțul B, care constituie un inhibitor al glutation-reductazei, spre deosebire de insulina integră, care nu are această acțiune. Efectul descris poate fi comparat într-o oarecare măsură cu stimularea sintezei acizilor grași de către acidul citric, care se explică, cel puțin în parte, prin producerea de nicotinadenindinucleotidfosfat (NADPH) cu ajutorul izocitric-dehidrogenazei. Ca atare, țesutul adipos ar conține sistemele enzimatice necesare reducerii insulinei native, lanțul B constituind adevărata formă activă, în timp ce insulina ca atare s-ar comporta ca un prohormon.

Hormonii melanoforo-stimulenți ai hipofizei mijlocii α și β (MSH) sînt polipeptide cu activitate hormonală strîns legată de activitatea secretorie a hipofizei mijlocii. α-MSH, izolat de la diverse specii animale, s-a dovedit a avea aceeași structură polipeptidică, fiind vorba de un tridecapeptid, a cărui grupare α_1-aminică terminală este acetilată, iar gruparea α-carboxilică, care aparține unui rest de valină, este amidată. Succesiunea în lanțul peptidic a primilor 13 acizi aminați este identică cu cea a corticotropinei. Structura chimică a acestui polipeptid, comparativ cu cea a corticotropinei, este reprezentată în figura 11.

Spre deosebire de α-MSH, care este identic din punct de vedere structural la mai multe specii animale, β-MSH diferă de la o specie la alta. Sînt cunoscute astăzi cel puțin cinci tipuri de β-MSH, dintre care două tipuri principale, care diferă între ele prin natura unui singur aminoacid din poziția 2 a lanțului peptidic (la porc, glumatil-β-MSH ; la bou, seril-β-MSH).

Cunoașterea relațiilor dintre structură și funcție la acești hormoni a fost posibilă datorită sintezei α-MSH, precum și a β-MSH. Cu acest prilej s-a dovedit că pentru activitatea biologică este absolut indispensabilă existența unei structuri polipeptidice minimale, și anume existența unui pentapeptid (HIS-FEN-ARG-TIR-GLI)

Scanned with OKEN Scanner

11. Structura α-MSH, β-MSH și ACTH la diverse specii de animale

care corespunde de altfel fragmentului polipeptidic comun moleculelor de α-MSH și β-MSH, precum și moleculei de adrenocorticotropină. Acest lanț polipeptidic de bază poate să păstreze o mare parte din proprietățile biologice ale acestui hormon, alungirea lui ducînd la o creștere netă a activității sale.

Proprietățile biologice ale acestor două peptide sînt relativ asemănătoare cu cele ale hormonului adrenocorticotrop. Astfel s-a dovedit prin experiențe pe iepure că α-MSH are o activitate adipokinetică, tradusă prin eliberarea de acizi grași din țesutul adipos, activitate similară celei adipokinetice a hormonului adrenocorticotrop. Activitatea adipokinetică a α-MSH-ului este însă mult mai mare decît aceea a hormonului adrenocorticotrop. Această similitudine de activitate biologică se explică prin secvența fragmentului polipeptidic comun moleculelor acestor doi hormoni, despre care s-a vorbit mai sus.

Studii privind acțiunea melanoforă a celor doi hormoni au arătat că administrarea lor timp de mai multe săptămîni determină

Scanned with OKEN Scanner

o hiperpigmentare netă a pielii. Rezultatele cele mai concludente au fost obținute cu α-MSH izolat de la porc, dar se pare că β-MSH izolat de la om a provocat cele mai intense hiperpigmentări. Aceste hiperpigmentări experimentale regresează într-un interval de aproximativ șase săptămîni de la inoculare. Se presupune că melanodermia bolnavilor cu insuficiență suprarenală cronică s-ar datora unei hipersecreții hipofizare de α-și β-MSH.

Adrenocorticotropina (ACTH), hormon secretat de hipofiza anterioară, este un polipeptid cu activitate hormonală deosebit de importantă. El este constituit dintr-un singur lanț de 39 de aminoacizi (fig. 11). Cercetările întreprinse de diferiți autori au arătat că molecula de ACTH de la diverse specii animale (oaie, bou și porc) are o compoziție globală identică, conținînd același număr de aminoacizi. Există însă și deosebiri specifice, care constau în natura diferită a unor aminoacizi situați între poziția 25 și 33, în vecinătatea extremităților carboxilice. Așa, de exemplu, hormonii izolați de la bou și oaie se deosebesc prin natura diferită a patru aminoacizi, care se schimbă între ei. Între ACTH-ul izolat de la oaie și de la porc există deosebiri structurale și mai mari : hormonul izolat de la porc are un rest de leucină în plus față de hormonul izolat de la oaie, în timp ce acesta din urmă are un rest de serină în plus față de primul.

În privința relațiilor dintre structură și activitatea biologică s-a demonstrat că acetilarea selectivă și exclusivă a grupării α-aminice terminale libere reduce în mod considerabil activitatea corticotropă a hormonului, intensificînd în același timp activitatea melanostimulentă, dar în proporții neglijabile față de cea a α-MSH-ului. Activitatea corticotropă și melanostimulentă a hormonului scade simțitor dacă se blochează grupările α-aminice libere terminale ale serinei și grupările NH_2 din restul lizinei. Esterificarea grupărilor carboxilice libere provoacă o scădere considerabilă a activității adrenocorticotrope, fără însă să modifice slaba activitate melanostimulentă a ACTH-ului. Inactivarea totală a hormonului se poate realiza prin oxidarea restului de metionină din poziția 4.

Activitatea hormonală a ACTH este strîns legată de integritatea lanțului peptidic în fragmentul de la 1 la 24. Studiile făcute pe lanțuri peptidice sintetice, similare hormonului au arătat că numai lanțurile cu cel puțin 16 aminoacizi în moleculă sînt active din punct de vedere biologic, cele cu cel puțin 23 de aminoacizi

Scanned with OKEN Scanner

în moleculă manifestînd o activitate hormonală aproximativ egală cu cea a ACTH-ului natural.

Acțiunile corticotropinei sînt bine cunoscute. Acest polipeptid stimulează biosinteza și eliberarea hormonilor corticoizi din zona fasciculată și reticulată a corticosuprarenalei (acțiune corticotropă), exercitînd astfel diferite funcții metabolice prin intermediul hormonilor corticosuprarenali, care sînt secretați sub controlul său.

În sfîrșit, încheiem seria exemplelor din care rezultă importanța deosebită a secvenții aminoacizilor în lanțul polipeptidic cu un fenomen întîlnit în patologia umană. În cazurile de anemie falciformă (boală ereditară caracterizată prin globule roșii în formă de coasă sau secere) s-a constatat că globulele roșii din sîngele omului conțin hemoglobina S, în structura căreia devierea de la normal constă în următoarele: porțiunea C-terminală a peptidului din poziția 4 este valină-acid glutamic-lizină, spre deosebire de hemoglobina normală, la care aceeași porțiune are structura acid glutamic-acid glutamic-lizină. În cazul altor stări patologice, hemoglobina desemnată prin litera C este modificată în aceeași porțiune printr-o succesiune diferită a aminoacizilor: lizină-acid glutamic-lizină. În esență, în primul caz acidul glutamic este înlocuit cu valină, iar în cel de-al doilea cu lizină. De asemenea s-a demonstrat că deosebirea dintre hemoglobina normală și cea patologică, notată cu litera E, constă în modificarea uneia dintre verigile lanțului polipeptidic β, în sensul că în poziția 5 din porțiunea C-terminală respectivă (peptidul 26) a hemoglobinei normale se găsește acidul glutamic, iar la hemoglobina E lizina.

Am prezentat mai amănunțit aceste date, deoarece studiul oxitocinei, vasopresinei, insulinei, hormonilor melanofori, hipofizari și ai hemoglobinei ilustrează destul de clar relația dintre structura chimică a proteinelor și funcția lor biologică.

În ultimii ani, cercetările privind secvența aminoacizilor în lanțul peptidic au luat o mare dezvoltare. Pînă în prezent nu au fost identificate însă decît fragmente izolate din moleculele proteice complexe și variate, care numără sute de aminoacizi. Deocamdată se cunoaște doar structura unor proteine mai simple, ca, de exemplu, a celor prezentate mai sus și a altora. Așa cum arăta Beliter, ceea ce cunoaștem în acest domeniu constituie doar fragmente scurte de text scris într-o limbă necunoscută. Pe baza acestor fragmente nu se poate descifra sensul textului. În viitor chimia proteinelor va reuși să stabilească succesiunea aminoacizilor în tot mai multe proteine. Fără îndoială că, pe măsura

Scanned with OKEN Scanner

în moleculă manifestînd o activitate hormonală aproximativ egală cu cea a ACTH-ului natural.

Acțiunile corticotropinei sînt bine cunoscute. Acest polipeptid stimulează biosinteza și eliberarea hormonilor corticoizi din zona fasciculată și reticulată a corticosuprarenalei (acțiune corticotropă), exercitînd astfel diferite funcții metabolice prin intermediul hormonilor corticosuprarenali, care sînt secretați sub controlul său.

În sfîrșit, încheiem seria exemplelor din care rezultă importanța deosebită a secvenței aminoacizilor în lanțul polipeptidic cu un fenomen întîlnit în patologia umană. În cazurile de anemie falciformă (boală ereditară caracterizată prin globule roșii în formă de coasă sau secere) s-a constatat că globulele roșii din sîngele omului conțin hemoglobina S, în structura căreia devierea de la normal constă în următoarele : porțiunea C-terminală a peptidului din poziția 4 este valină-acid glutamic-lizină, spre deosebire de hemoglobina normală, la care aceeași porțiune are structura acid glutamic-acid glutamic-lizină. În cazul altor stări patologice, hemoglobina desemnată prin litera C este modificată în aceeași porțiune printr-o succesiune diferită a aminoacizilor : lizină-acid glutamic-lizină. În esență, în primul caz acidul glutamic este înlocuit cu valină, iar în cel de-al doilea cu lizină. De asemenea s-a demonstrat că deosebirea dintre hemoglobina normală și cea patologică, notată cu litera E, constă în modificarea uneia dintre verigile lanțului polipeptidic β, în sensul că în poziția 5 din porțiunea C-terminală respectivă (peptidul 26) a hemoglobinei normale se găsește acidul glutamic, iar la hemoglobina E lizina.

Am prezentat mai amănunțit aceste date, deoarece studiul oxitocinei, vasopresinei, insulinei, hormonilor melanofori, hipofizari și ai hemoglobinei ilustrează destul de clar relația dintre structura chimică a proteinelor și funcția lor biologică.

În ultimii ani, cercetările privind secvența aminoacizilor în lanțul peptidic au luat o mare dezvoltare. Pînă în prezent nu au fost identificate însă decît fragmente izolate din moleculele proteice complexe și variate, care numără sute de aminoacizi. Deocamdată se cunoaște doar structura unor proteine mai simple, ca, de exemplu, a celor prezentate mai sus și a altora. Așa cum arăta Beliter, ceea ce cunoaștem în acest domeniu constituie doar fragmente scurte de text scris într-o limbă necunoscută. Pe baza acestor fragmente nu se poate descifra sensul textului. În viitor chimia proteinelor va reuși să stabilească succesiunea aminoacizilor în tot mai multe proteine. Fără îndoială că, pe măsura

Scanned with OKEN Scanner

rezolvării acestor probleme, vor fi stabilite și legile care stau la baza structurii proteinelor și, prin urmare, succesiunile aminoacizilor nu vor mai părea o enigmă, clarificîndu-se atît modul în care structura lanțurilor polipeptidice este legată de funcțiile specifice ale proteinelor, cît și modul în care se reflectă în această structură relațiile filogenetice, însușirile specifice și particularitățile individuale ale organismelor.

Treptele a doua și a treia a structurii proteinelor corespund macrostructurii moleculei proteice. În molecula proteică, lanțurile polipeptidice sînt dispuse sub formă unei rețele spațiale tridimensionale, a cărei structură are, de asemenea, o importanță excepțională pentru funcțiile biologice ale proteinelor. Astăzi este un lucru dovedit că reactivitatea chimică a radicalilor laterali și a grupărilor polare, terminale, ale aminoacizilor legați în catenele polipeptidice se manifestă nu numai în interacțiunile exterioare cu alte substanțe, ci și în cele intramoleculare. Această interacțiune intramoleculară dintre radicalii R ai aminoacizilor din lanțul polipeptidic duce la răsucirea sau la plierea regulată a lanțurilor peptidice și la înmănuncherea lor în structuri tridimensionale relativ stabile, cu o configurație spațială internă strict ordonată și în același timp specifică. Acest tip structural este caracteristic moleculei proteice. După cum se știe, și alte molecule, ca, de exemplu, cea de cauciuc, pot să se adune în ghem sub acțiunea energiei calorice. Dar structura unui astfel de ghem este absolut întîmplătoare, diferitele sectoare ale moleculei nefiind legate între ele, din care cauză poate fi desfăcut ușor prin simpla întindere mecanică.

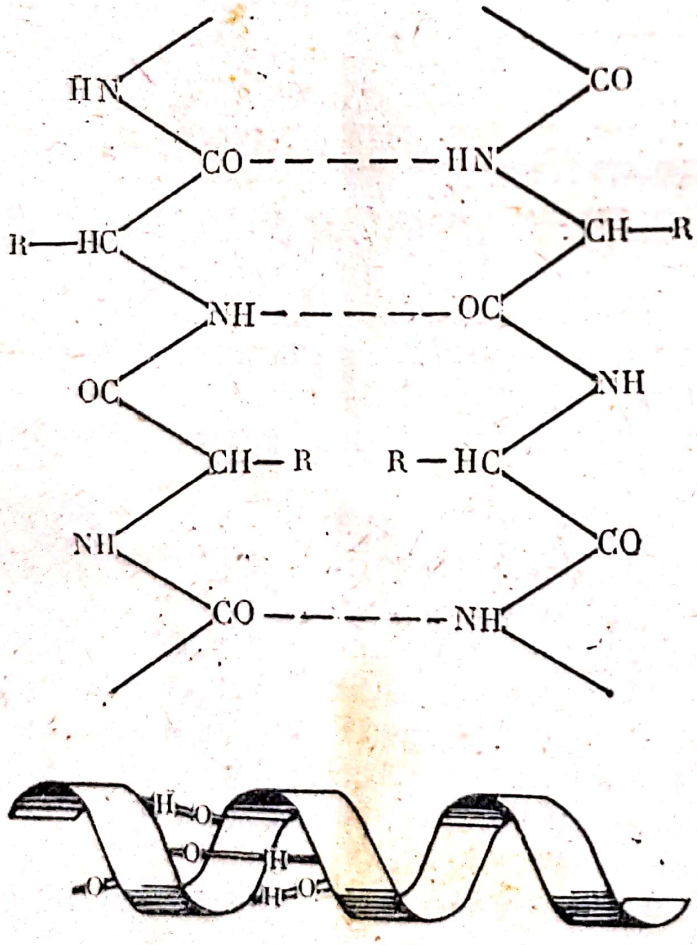
Dimpotrivă, structura internă a moleculelor proteice răspunde anumitor legi, diferitele sectoare ale lanțurilor peptidice și ale ciclurilor închise fiind așezate într-un mod determinat unele față de altele și unite prin legături de diferite tipuri, dintre care cele mai importante sînt cele de hidrogen. O astfel de structură condiționează atît dimensiunile bine determinate, cît și forma așa-numitei molecule proteice fundamentale. Acestea se pot uni în particule monodisperse, discrete, cu greutate moleculară multiplă: adevărate micele sau complexe moleculare. În unele cazuri, ele se disociază lesne și reversibil în molecule fundamentale, ceea ce

Scanned with OKEN Scanner

dovedește că legăturile care unesc subunitățile în polimeri sînt mai puțin trainice.

Din cele arătate se înțelege că arhitectura spațială a moleculelor proteice are o importanță hotărîtoare pentru determinismul reactivității chimice a unei proteine și deci pentru funcțiile ei biologice. Numai așa se poate explica de ce o proteină joacă rolul de ferment, alta de hormon, alta de anticorp, alta de substanță elastică și așa mai departe. Chiar dacă în lanțurile peptidice compoziția și succesiunea aminoacizilor se mențin constante, proprietățile chimice și funcțiile biologice ale moleculei proteice se modifică în funcție de așezarea în spațiu a grupărilor active ale catenelor laterale din lanțurile polipeptidice, de configurația spațială a moleculei proteice. Radicalii aflați la suprafața moleculei vor fi mai ușor supuși interacțiunii chimice, iar cei ascunși în interiorul moleculei vor fi „camuflați" de grupările spațiale alăturate.

Așadar, macromolecula proteică nu se reduce la o simplă catenă peptidică liniară, întrucît majoritatea proteinelor conțin în molecula lor mai multe catene peptidice liniare, care prin înfășurare și îmbinare între ele realizează macromolecula specifică. Plierea, înfășurarea și îmbinarea lanțurilor polipeptidice în macromolecula proteică se realizează prin stabilirea unor legături diferite de cele peptidice, ca legături de hidrogen, de sulf, fosfatice, saline etc.

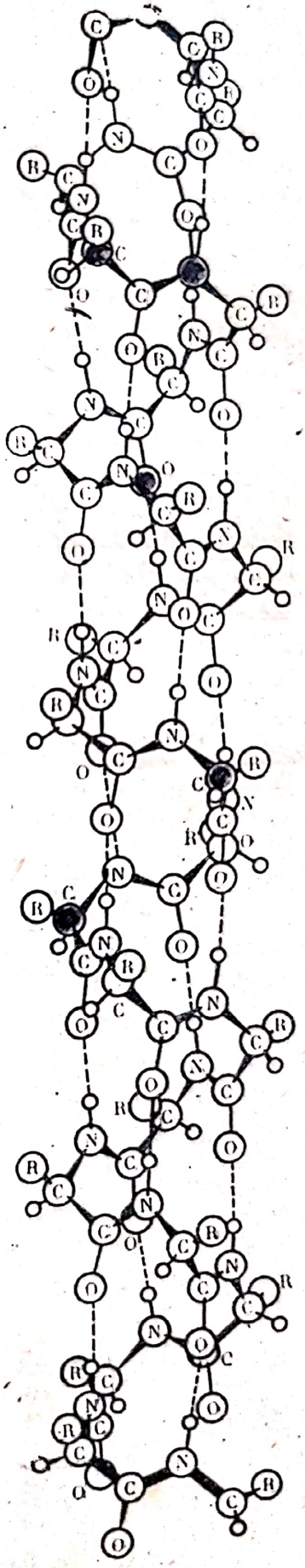


12. Legături de hidrogen: *sus* — intercatenare; *jos* — intracatenare

Legăturile de hidrogen se stabilesc între hidrogenul α-aminic și oxigenul α-carboxilic, fie în interiorul aceleiași catene polipeptidice, și în acest caz avem de-a face cu

Scanned with OKEN Scanner

13. Fragment din α-helixul lui Pauling și Corey. Sferele reprezintă centrele atomilor în afară de atomii de hidrogen care sînt reprezentați prin cercuri mai mici: C = carbon; N = azot; O = oxigen; o = hidrogen; R = rest de aminoacid



legături de hidrogen intracatenare, fie între două catene polipeptidice vecine, în care caz legăturile de hidrogen sînt intercatenare (fig. 12, *sus*). Cînd legăturile de hidrogen se stabilesc intracatenar, adică între atomii de hidrogen și oxigen ale aceleiași catene, lanțul polipeptidic suferă fie o pliere, fie o răsucire în spirală (fig. 12, *jos*). Pauling și Corey au arătat că tocmai aceste legături de hidrogen, care se stabilesc între hidrogenul azotului aminic al unui aminoacid și oxigenul carbonului carboxilic al aminoacidului vecin, realizează acea structură în spirală numită α-helix. În figura 13 este reprezentat un fragment de α-helix. Sferele mari constituie centrele atomilor, neincluzîndu-se cei de hidrogen, care sînt reprezentați prin cercuri mai mici. Lanțul fundamental și atomii sînt reprezentați cu linii cu atît mai groase cu cît porțiunea considerată este mai apropiată de observator. Liniile punctate reprezintă legături de hidrogen.

Cînd legăturile de hidrogen se stabilesc între hidrogenul aminic al unui aminoacid dintr-o catenă peptidică și oxigenul carboxilic al unui aminoacid aparținînd catenei peptidice adiacente, deci în cazul legăturilor de hidrogen intercatenare, se realizează îmbinarea catenelor peptidice, ceea ce duce la construirea unei structuri spațiale tridimensionale a macromoleculei proteice.

Existența legăturilor de hidrogen a fost demonstrată prin examinarea proteinelor și a peptidelor sub formă de film sau de

pelicule uscate cu ajutorul radiațiilor infraroșii. De asemenea, aceste legături au fost constatate și în proteinele din mediul apos, prin folosirea deuteriului.

La stabilirea legăturilor intercatenare participă, în afară de legăturile de hidrogen, și resturile R ale catenelor laterale din lanțul peptidic extins, pliat sau răsucit în spirală. Aceste resturi, specifice fiecărui aminoacid în parte, sînt formate din lanțurile laterale ale valinei, leucinei și izoleucinei, din ciclul benzenic al fenilalaninei, ciclul fenolic al tirozinei, nucleul indolic al triptofanului etc. Resturile acestea participă la formarea macrostructurii proteice, stabilind între ele diferite tipuri de legături: de sulf, legături de tip salin, fosfatice, coordinative-homeopolare etc.

Legăturile nepolare participă la stabilizarea macrostructurii datorită tendinței acestora de a se „desprinde" din mediul apos, de a se uni între ele și de a se separa în porțiuni nepolare, care să nu vină, pe cît posibil, în contact cu apa. Pentru lanțurile polipeptidice cu un număr suficient de grupări laterale nepolare, ca, de pildă, catenele laterale ale leucinei, izoleucinei și valinei, este posibilă — prin grupări nepolare — consolidarea anumitor stări de înfășurare. Aceste grupări, care au un caracter hidrofob, sînt importante și din alt punct de vedere, în sensul că ele explică legăturile ce se stabilesc între proteine și alte grupări hidrofobe, ca acelea ale acizilor grași, detergenților și haptenelor. Întrucît aceste grupări reacționează cu porțiunile nepolare ale moleculei proteice, este posibil ca adiționarea substanțelor amintite să fie asemănătoare interacțiunii catenelor laterale nepolare ale aminoacizilor din proteina însăși.

Rolul însemnat al grupărilor nepolare din macromolecula proteică este demonstrat și de acțiunea unor solvenți organici asupra acesteia. Astfel s-a stabilit că în seria alcoolilor omologi (etilic, metilic, n-propilic, n-butilic), o dată cu creșterea lungimii lanțului atomilor de carbon, se intensifică și procesul de denaturare a proteinelor. Această acțiune a alcoolilor, care la început a fost considerată ca un rezultat al absorbției lor de către proteine, este socotită astăzi ca un efect al interacțiunilor dintre grupările nepolare ale alcoolului și cele ale proteinei. Această interacțiune provoacă ruperea legăturilor hidrofobe din cadrul moleculei de proteină, ducînd la dezintegrarea macrostructurii native a acesteia. Interacțiunile stabilizatoare ale grupărilor nepolare depind atît de numărul lor, cît și de repartiția în lanțul polipeptidic.

Scanned with OKEN Scanner

Unii autori au emis ipoteza potrivit căreia grupările anionice și cationice ale moleculei proteice participă la consolidarea macrostructurii prin formarea de legături de tip salin. După alți autori acest tip de legătură nu a fost demonstrat încă destul de convingător. Dacă legăturile saline ar juca un rol esențial în stabilirea macrostructurii, atunci o dată cu creșterea concentrației sării neutre ar fi de așteptat o destabilizare a proteinei native. În realitate însă are loc o stabilizare a acesteia, legată de acțiunea desalifiantă a sărurilor. Prin această acțiune, sărurile fac să crească coeficientul de activitate a grupărilor și moleculelor nepolare în mediul apos. De aceea ele determină o creștere a gradului de stabilitate a legăturilor hidrofobe existente în proteină, lucru ce explică efectul lor stabilizator asupra macrostructurii.

S-a stabilit de asemenea că în cazul modificării reacției mediului în sensul unei mari aciditați sau alcalinități față de punctul izoelectric, în molecula proteinei respective se acumulează sarcini electrice pozitive sau negative. Respingerea reciprocă a acestora determină tendința de întindere a moleculei, creează o tensiune și diminuează stabilitatea macrostructurii moleculare. Numeroși autori au arătat că energia de respingere a sarcinilor de același sens poate atinge zeci de calorii pentru un mol de proteină.

Legăturile covalente, și în special cele de sulf, iar în unele cazuri cele esterice participă în mare măsură la menținerea macrostructurii proteinei. Într-adevăr s-a stabilit că legăturile de sulf influențează stabilitatea lanțului polipeptidic. Un exemplu demonstrativ constă în aceea că după desfacerea acestor legături ribonucleaza manifestă foarte puțin tendința de a se înfășura în spirală. În același fel se comportă și lanțul A al insulinei. Importanța legăturii de sulf este confirmată și de faptul că în cazul desfacerii acesteia dispar funcțiile specifice ale fermenților și ale altor categorii de proteine.

Deși natura forțelor și felul legăturilor care unesc proteinele cu alți compuși nu este totdeauna binecunoscută, deoarece tipurile de legături sînt tot atît de variate ca în cazul macrostructurii holoproteinelor, trebuie totuși să se țină seama de unele interacțiuni care mențin macrostructura proteinelor complexe (heteroproteinelor). Astfel este recunoscută legătura esențial ionică dintre un acid nucleic și o proteină bazică sau dintre o coenzimă și apoenzimă. De asemenea, lipoproteinele au legături ionice între fosfolipide și proteine, precum și legături Van der Waals între lanțurile hidrofobe. După cum se știe, combinarea specifică dintre

Scanned with OKEN Scanner

hem sau nucleotidul flavonic și proteina corespunzătoare face ca macrostructura acesteia din urmă să prezinte un grad mai mare de stabilitate. Aceasta se realizează și prin adiționarea unor cofermenți, ca nicotinamidadenindinucleotidul (NAD), fapt ilustrat de exemplul dehidrazei aldehidei-3-fosfoglicerice. Același lucru se poate spune despre adiționarea ionilor metalelor bi- și trivalente, deși efectul de stabilizare nu constituie o regulă generală în combinarea proteinelor cu metalele polivalente, întrucît în unele cazuri se observă o acțiune inversă, și anume restabilirea. După cît se pare, influența metalelor depinde de porțiunea moleculei proteice la care se adiționează. Probabil că efectul metalelor și al altor componente prostetice se bazează pe formarea legăturilor în două sau mai multe puncte ale lanțului polipeptidic, ceea ce în unele cazuri nu vine în contradicție cu tendințele proprii ale lanțului în privința configurației, ci consolidează macrostructura proteinei; în alte cazuri provoacă o tensiune și diminuează stabilitatea structurii.

Macrostructura care presupune organizarea moleculei proteice într-un sistem tridimensional conferă fiecărei macromolecule o arhitectură specială, reprezentînd o etapă superioară de organizare a materiei vii, în care proteina capătă proprietăți fizico-chimice și biologice cu totul noi, care stau la baza multor activități ale acestora (hormonală, enzimatică, antigenică etc.). De asemenea, macrostructura imprimă moleculelor proteice unele proprietăți fizico-chimice, ca, de pildă, caracterul coloidal al soluțiilor proteice, fenomenele de denaturare, precipitare etc.

Greutatea moleculară mare, care variază în limite foarte largi (între $2 \cdot 10^3$ și $20 \cdot 10^7$) și dimensiunile moleculare considerabile conferă proteinelor una dintre cele mai importante proprietăți fizice, și anume *caracterul coloidal al soluțiilor proteice*. Coloizii proteici fac parte din grupul coloizilor liofili sau hidrofili. Particulele coloidale pot fi formate fie din înșeși macromoleculele proteice, fie din agregate moleculare, ca în cazul cazeinei, gelatinei etc. Această proprietate de a forma soluții coloidale stă la baza altor proprietăți fizice ale proteinelor, ca presiune osmotică și putere de difuzie mică, migrare în cîmpul electric, tensioactivitatea și fenomenul Tyndall.

Caracterul coloidal al proteinelor în soluție prezintă un deosebit interes fiziologic, întrucît explică unele funcții ale proteinelor, ca, de pildă, presiunea coloidosmotică a plasmei sanguine, care constituie un factor important în dinamica schimburilor de lichide, în sistemele plasmă-endoteliu, capilar-lichid interstițial.

Scanned with OKEN Scanner

Stabilitatea soluțiilor coloidale proteice depinde de încărcarea electrică și de hidratarea particulelor. Modificarea încărcăturilor electrice a particulelor prin adaosul de electroliți sau deshidratarea lor prin adaosul de alcool are drept urmare modificarea stabilității soluției coloidale, ducînd la precipitarea proteinelor.

Prin denaturare, care constă în modificarea structurii proteinelor cu menținerea integrității și greutății moleculare, acestea capătă proprietăți fizico-chimice și biologice cu totul noi. Agenții denaturanți pot fi de natură fizică (căldură, iradiații, presiuni mari, agitare puternică) sau chimică (concentrații mari de acizi, baze, metale grele, solvenți organici, uree, detergenți). Solubilitatea proteinelor denaturate descrește, mergînd pînă la precipitare, floculare și coagulare; se modifică presiunea osmotică, viscozitatea, capacitatea de cristalizare, activitatea optică; se intensifică reacțiile de culoare, apărînd chiar unele reacții caracteristice unor grupări funcționale (de exemplu gruparea SH eliberată din legătura de sulf prin denaturare). Prin denaturare proteinele pot fi atacate mai ușor de unele enzime hidrolitice, modificîndu-se proprietățile biologice caracteristice unora dintre ele, ca, de exemplu, activitatea enzimelor, a hormonilor, a anticorpilor etc.

Mecanismul procesului de denaturare este încă nelămurit. Totuși, se știe că el constă dintr-o serie de modificări ale structurii moleculei de proteină sub acțiunea agenților denaturanți. În primele faze ale procesului de denaturare, modificările sînt reversibile. Dacă însă acțiunea agentului denaturant se prelungește sau este suficient de intensă, modificările structurale devin ireversibile. Acțiunea agenților denaturanți se exercită asupra legăturilor intramoleculare, care condiționează o anumită pliere a catenelor din molecula proteică, ducînd la modificarea arhitecturii moleculare, la dezorganizarea acesteia. Diferiți agenți denaturanți acționează asupra anumitor tipuri de legături intramoleculare. Astfel, compușii de tipul ureei ar desface legăturile de hidrogen, de sulf și intrapeptidice, acizii și bazele puternice ar rupe legăturile saline, iar căldura ar acționa atît asupra legăturilor saline, cît și asupra celor de hidrogen.

Denaturarea și precipitarea alterează profund macrostructura proteică, făcînd-o ireversibilă. Proteinele sînt precipitate în soluțiile apoase ale diferiților reactivi: acizi (tricloracetic, piruvic, tanic, tungstic, ferocianic, sulfosalicilic etc.), soluții concentrate de săruri neutre (sulfat de sodiu, sulfat de amoniu etc.), alcooli

Scanned with OKEN Scanner

(metilic, etilic etc.), metale grele (săruri de mercur, argint, platină, plumb, cupru). Acizii precipită proteinele prin proprietatea acestora de a neutraliza încărcăturile electrice ale moleculelor proteice. Soluțiile concentrate de săruri realizează precipitarea prin acțiunea de „deshidratare" pe care o exercită sărurile asupra moleculelor proteice; alcoolii, ca și soluțiile concentrate de săruri neutre, precipită proteinele prin scoaterea apei din învelișul protector al moleculelor proteice și al particulelor coloidale. Metalele grele, mai bine zis sărurile acestora, precipită proteinele prin acțiunea lor asupra încărcăturii electrice a moleculei proteice. Proteinele intracelulare, care în condiții fiziologice disociază ca anioni la pH-ul alcalin al punctului izoelectric, sînt foarte sensibile la ioni de semn contrar. Fenomenul este valabil nu numai pentru ionii de hidrogen, dar și pentru metalele grele enumerate mai sus, care produc o intensă precipitare a proteinelor. Precipitatul poate fi redizolvat uneori prin adaosul de alcooli, dar de multe ori este ireversibil.

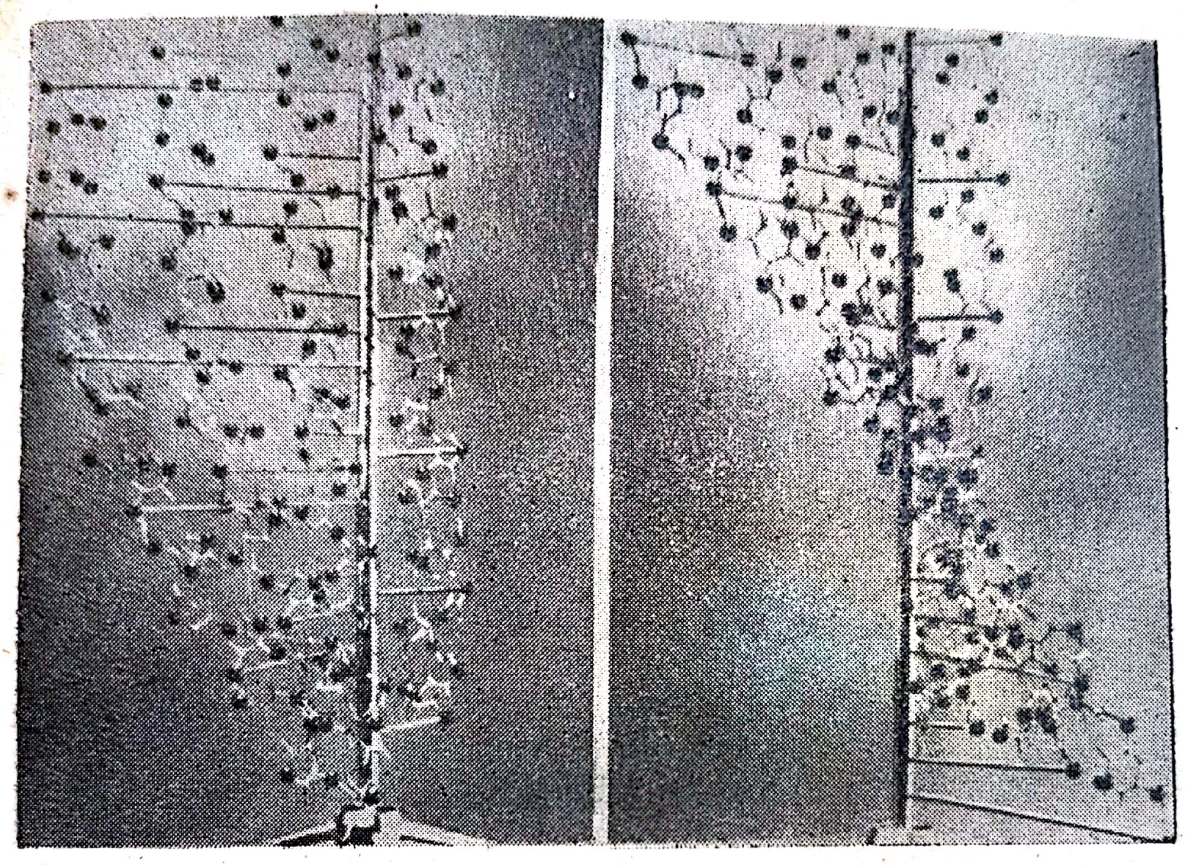
Înainte de a încheia acest capitol, în care am făcut cunoștință cu principalele caracteristici fizico-chimice și structurale ale proteinelor ca substanțe organice complexe macromoleculare, vom spune cîteva cuvinte despre morfologia moleculei proteice. Molecula proteică poate fi de două tipuri : fibrilară și globulară, între acestea existînd o serie de tipuri intermediare. Aceste două mari tipuri macrostructurale se deosebesc nu numai sub raportul proprietăților lor fizico-chimice, ci și sub cel al proprietăților biologice.

Astfel, proteinele fibrilare, liniare sau fibroase, care au o morfologie filiformă, sînt insolubile în apă și nu sînt, în general, atacate de fermenți; din punct de vedere biologic dețin în organism rolul de susținere, de protecție și de rezistență mecanică (de exemplu keratina din firul de păr, colagenul din țesutul conjunctiv etc.). Proteinele globulare sau ovulare sînt în general solubile, atacate de fermenți și dețin cele mai importante funcții din organism (enzimatice, hormonale etc.).

În figura 14 este prezentată schematic macrostructura unei proteine fibrilare (colagen), iar în figura 15 macrostructura unei proteine globulare (hemoglobină).

Studii efectuate prin metoda spectrelor de difracție a radiațiilor X, spectrul de infraroșu, determinarea distanțelor interatomice și a unghiurilor de valență au pus în evidență elemente structurale comune proteinelor fibrilare și celor globulare, ca : existența legăturilor peptidice, a lanțurilor polipeptidice pliate

Scanned with OKEN Scanner



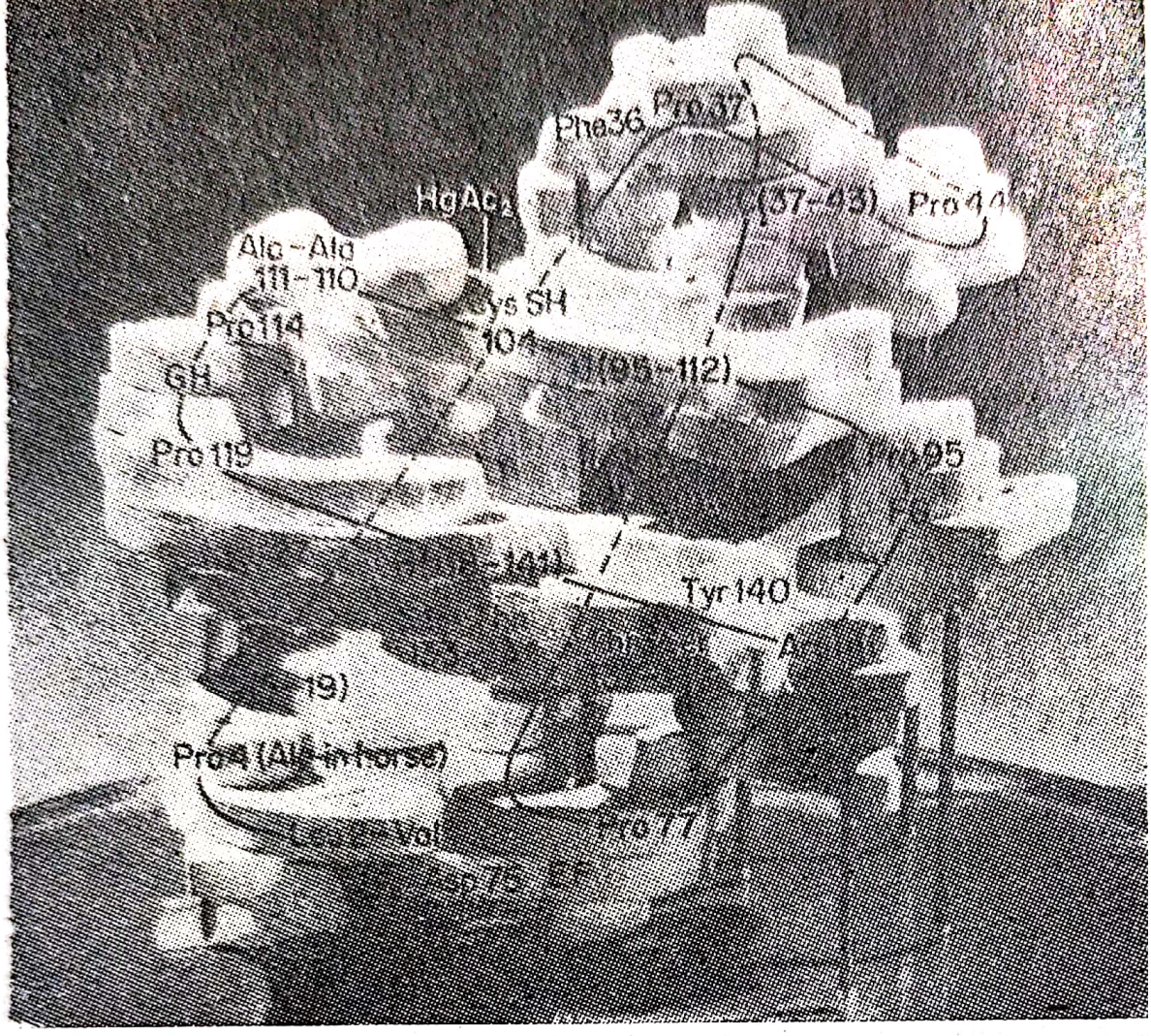
14. Structura α-keratinei. Fotografie luată din două direcții a modelului propus de Swambeck

sau spiralate, a catenelor α-helicoidale și altele. Legăturile de hidrogen care se stabilesc între grupările vecine CO și NH ale catenei peptidice stau la baza plierii sau răsucirii în spirală a lanțurilor polipeptidice care intră atît în constituția proteinelor fibrilare, cît și a celor globulare.

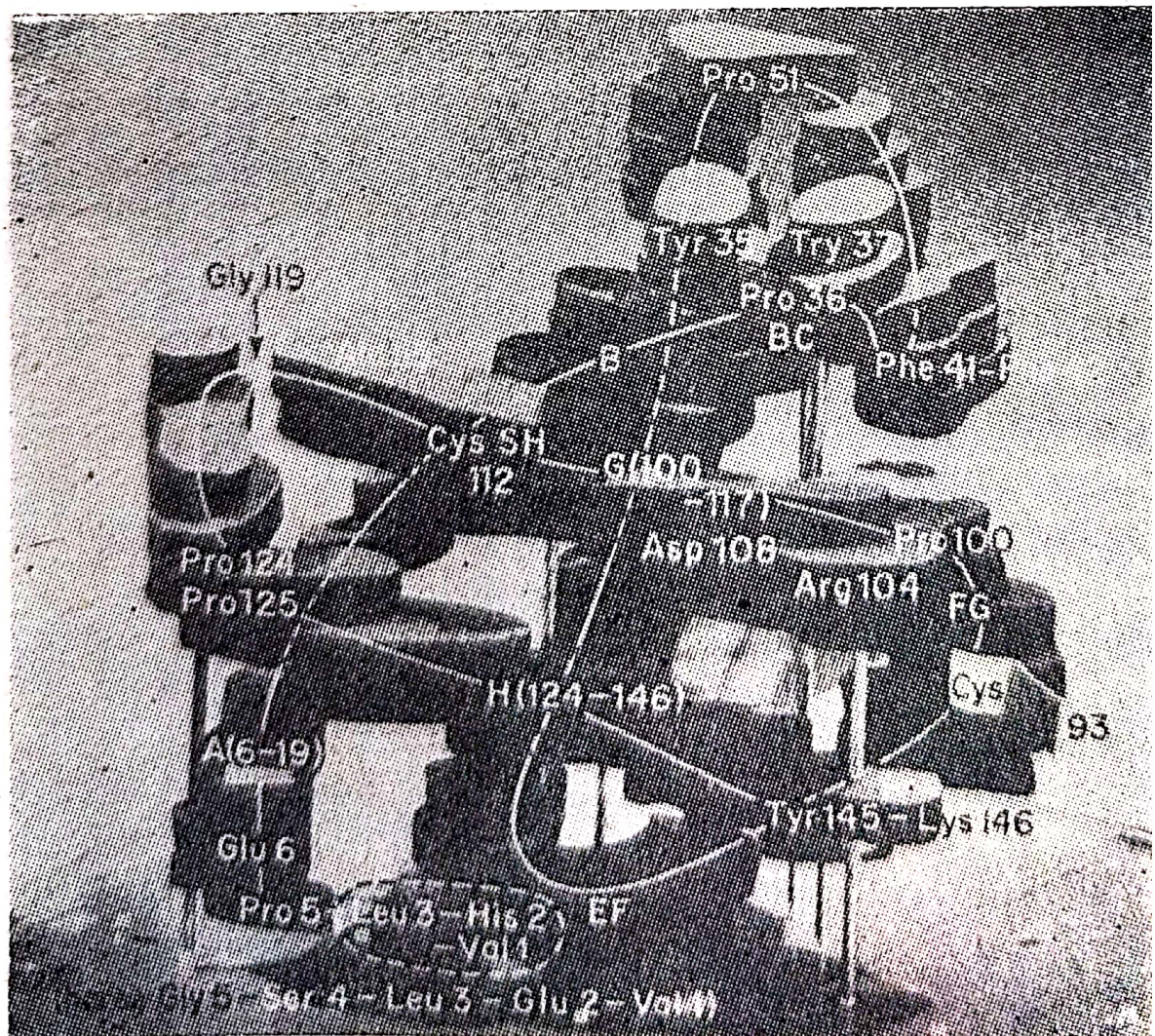
Unii autori atribuie un rol important în realizarea macrostructurii proteinelor globulare și legăturilor saline care se stabilesc între resturile carboxil și amine ale catenelor laterale, precum și a celor de sulf. Deplierea sau derularea spiralei este însoțită de modificarea caracterelor fizico-chimice, dar mai ales biologice, deși aceasta nu implică și ruperea legăturilor dintre catene, ci numai desfacerea legăturilor covalente intracatenare.

O proteină globulară denaturată sub acțiunea anumitor agenți poate fi transformată într-alta fibrilară — configurație β — dacă legăturile intercatenare nu au fost distruse. Catenei polipeptidice a proteinei native răsucite în spirală îi corespunde ca formă un

Scanned with OKEN Scanner



15. Structura hemoglobinei (după Perutz):
a — modelul de structură al catenei α; *b* — modelul de structură al catenei β



Scanned with OKEN Scanner

cilindru elipsoidal cu un diametru de aproximativ 10 Å, fiecare spirală a elicoidului corespunzînd la 3,7 aminoacizi. Plierea sau înfășurarea catenei polipeptidice este asigurată, așa cum s-a mai arătat, de legăturile intracatenare, în special cele de hidrogen. De asemenea, resturile catenelor laterale care disociază ionic, ca, de exemplu, grupările carboxilice și aminice, pot exercita atracții sau respingeri, așa încît o catenă lungă, de tipul catenelor proteinelor fibroase, se poate replia de mai multe ori în jurul său, ca în cazul proteinelor globulare. Uneori molecula proteică este formată din catene scurte (monomeri) puse cap la cap, care apoi se pot spirala.

Forma moleculelor globulare este determinată de forțele de atracție și de respingere intra- și intercatenare, de aceea poate fi modificată de anumiți factori. Dacă forțele de respingere se micșorează, forma globulară a proteinei se accentuează, și invers. Replierea, bobinarea și desfacerea catenelor depind de condițiile de mediu în care se găsește proteina (pH, salinitatea mediului, radiații, presiune, prezența diferiților compuși chimici etc.). Acest fapt explică marea variabilitate funcțională a proteinelor în raport cu condițiile de mediu. Astfel, unele proteine fibrilare pot trece în formă globulară dacă sînt puse în condiții de mediu schimbate.

Multe proteine globulare se prezintă sub formă polimerizată, gradul de polimerizare depinzînd însă tot de condițiile de mediu. Astfel, în mediu salin hemoglobina are o greutate moleculară de 68 000, iar în mediul care conține uree de 34 000. În mediul apos și la un anumit pH, greutatea moleculară a insulinei este de 36 000, iar cea a monomerului acestui polipeptid de aproximativ 6 000. Proteinele globulare nu au o formă perfect sferică, ci mai degrabă una elipsoidală.

În sfîrșit, cîteva cuvinte despre cristalizarea proteinelor. Proteinele sînt, în general, substanțe amorfe, dar s-a reușit să se obțină și forme cristaline, ca, de pildă, hemoglobina, ovalbumina, serumalbumina, lactalbumina, unele enzime etc. În procesul cristalizării, moleculele sînt legate între ele printr-un număr mic de puncte de pe suprafețele lor. Totodată, ele sînt dispuse într-un anumit fel una față de alta, formînd cristalul proteic. Cristalele proteice sînt bogate în apă, aceasta ocupînd aproximativ jumătate din volumul lor. O parte din apă este fixată pe moleculele proteice, restul aflîndu-se în stare liberă. Apa liberă, împreună cu sărurile pe care le conține sau cu alte componente, umple spațiile dintre suprafețele neregulate ale moleculelor proteice. Îndepăr-

Scanned with OKEN Scanner

tarea apei provoacă deformarea și tulburarea profundă a structurii proteinelor. Moleculele proteice rămîn hidratate în cristale, găsindu-se în echilibru cu apa liberă, ceea ce contribuie la păstrarea macrostructurii lor native. Acest fapt se referă numai la cristalele albuminelor globulare.

Diversitatea proteinelor din natura vie

Diversitatea lumei vii se înfățișează sub cele mai variate aspecte, fiind rezultatul evoluției speciilor și al adaptării lor la condițiile de existență. Fiecare organism viu își are trăsăturile sale specifice, proprii numai lui, de aceea nici un fenomen al vieții nu poate fi interpretat în afara teoriei specificității biologice, teorie pe care se bazează însăși clasificarea sistematică a regnului vegetal și a celui animal. Specificitatea biologică nu este o însușire exclusiv a organismelor, ci și a țesuturilor și chiar a celulelor din care acestea sînt formate. Orice component celular al unei ființe unisau pluricelulare este specific prin însăși natura lui. Faptul că în cadrul unei specii sau al unui organism se remarcă pe plan biologic numeroase puncte de asemănare nu exclude existența unor deosebiri caracteristice fiecărui individ.

În procesul evoluției materiei vii s-au format diferite specii de animale și vegetale, fiecare dintre ele cu particularități biologice specifice. În interiorul unei specii pot să apară linii de dezvoltare deosebite, cu proprietăți specifice. Deși toate celulele unui organism viu provin dintr-o sursă unică, elementele celulare ale fiecărui organ prezintă deosebiri specifice. Așa, de exemplu, din punct de vedere biologic celulele ficatului nu sînt identice cu cele ale rinichiului. Prin urmare, pe lîngă specificitatea de specie, celula deține și o specificitate de organ. Mai mult, în fiecare organ, chiar elemente absolut omogene din punct de vedere morfologic nu prezintă o identitate funcțională absolută, fiecare dintre ele caracterizîndu-se prin potențe biologice proprii, prin particularități funcționale și de dezvoltare individuale, printr-o strictă specificitate. Miile de reacții chimice care se petrec în organismele vii și care formează în totalitatea lor ceea ce numim metabolism intermediar sînt strict specifice, strict ordonate.

Biochimia modernă a demonstrat că la baza diversității și specificității organismelor vii stau în primul rînd diversitatea și

Scanned with OKEN Scanner

specificitatea proteinelor. În natura vie există un număr aproape infinit de proteine individuale, care se reflectă în specificitatea biologică. Astăzi s-a reușit să se individualizeze și să se studieze un număr important din proteinele existente în natura vie. În cele ce urmează sînt prezentate cele mai importante categorii de proteine vegetale și animale.

După compoziția și structura lor chimică proteinele pot fi împărțite în două mari categorii, și anume : proteine simple și proteine complexe sau conjugate. *Proteinele simple* sînt formate exclusiv din lanțuri polipeptidice, care, la rîndul lor, așa cum am văzut, sînt compuse din aminoacizi. În categoria proteinelor simple se deosebesc : protaminele, histonele, albuminele, globulinele, prolaminele, glutelinele, scleroproteinele și globinele.

Proteinele conjugate sau complexe sînt formate, pe lîngă lanțurile polipeptidice, și din alte componente, numite grupări prostetice. Aceste grupări sînt unite cu lanțurile polipeptidice prin legături de diferite tipuri (ionice, saline, esterice etc.). Proteinele conjugate se mai numesc și proteide sau heteroproteine. Prin hidroliză, aceste proteine eliberează, în afară de aminoacizi, și alte substanțe provenite din grupările prostetice, și anume : acid fosforic, diferite zaharuri, acizi nucleici, metale etc. În categoria proteinelor conjugate se deosebesc : fosfoproteinele, glicoproteinele, lipoproteinele metaloproteinele și nucleoproteinele.

Albuminele sînt proteine în structura cărora intră toți aminoacizii naturali, în afară de glicocol. Ele au caracter acid, sînt solubile în apă, coagulează prin căldură și precipită în soluții saturate de sulfat de amoniu. Albuminele sînt bogate în acid aspartic, acid glutamic, valină, leucină, lizină și sărace în triptofan. Conțin în molecula lor cantități foarte mici de glucide, iar unele dintre ele chiar acid fosforic. Albuminele au fost izolate în stare cristalizată.

În regnul vegetal, albuminele se găsesc în toate organele plantelor, de cele mai multe ori asociate cu globulinele, de care se separă datorită solubilității lor diferite. Spuma albă care apare în timpul fierberii fructelor și a legumelor se datorește prezenței albuminelor, care, părăsind celula vegetală, coagulează și de aceea se ridică la suprafață. Cel mai bine studiate au fost albuminele izolate din semințele plantelor. Dintre acestea amintim *legumelina* din semințele de leguminoase (mazăre, linte, soia etc.), *leucozina* din semințele de cereale (grîu, secară, ovăz) și *ricina* din semințele de ricin. Studiul comparativ al compoziției în ami-

Scanned with OKEN Scanner

noacizi a acestor albumine a arătat diferențe mari de la o albumină la alta. Așa, de pildă, leucozina este mult mai săracă în acid glutamic decît legumelina și ricina. În stare pură, ricina manifestă proprietăți toxice evidente, datorită anumitor grupări atomice din molecula ei. Se mai cunosc și alte albumine vegetale toxice, ca, de pildă, *crotina* din semințele de croton, *falina* din ciuperca otrăvitoare *Amanita phaloides* și *soina* din boabele de soia. Aceste substanțe, care au căpătat denumirea de *toxalbumine*, au proprietatea de a aglutina globulele roșii din sîngele animalelor, proprietate asemănătoare cu cea a anticorpilor. Din această cauză, toxalbuminele au mai fost denumite și *fitoaglutinine*.

În regnul animal, albuminele sînt foarte larg răspîndite, găsindu-se în cantități mari în special în serul sanguin al animalelor (serumalbuminele). Aceste albumine au o importanță biologică deosebită, deoarece participă la numeroase procese vitale. De pildă, albuminele din plasma umană formează constituentul proteic de bază al acesteia, reprezentînd 55—60% din totalul proteinelor plasmatice, adică mai mult de jumătate din proteinele plasmatice ce se găsesc sub formă de albumine.

Cercetări amănunțite efectuate în ultimii ani au demonstrat neomogenitatea albuminelor serice. Astfel, deși din punct de vedere electroforetic albumina apare ca o fracțiune omogenă, nu se poate demonstra că moleculele de albumină sînt toate identice atît sub raportul compoziției lor în aminoacizi, cît și sub cel al ordinii în care acestea sînt dispuse în lanțul peptidic. Același lucru se poate spune și despre configurația spațială a moleculelor de albumină. Într-adevăr, dacă se iau în considerație unele criterii fizico-chimice care stau la baza diferențierii albuminelor plasmatice, putem deosebi mai multe grupuri în cadrul acestei fracțiuni proteice. Astfel, un grup ar fi reprezentat de *mercaptalbumine*, care conțin în molecula lor grupări sulfhidrilice, spre deosebire de *nemercaptalbuminele*, care nu conțin aceste grupări, adică funcțiuni tiolice dozabile.

Un alt grup în cadrul fracțiunii albuminice a serului ar fi reprezentat, pe de o parte, de *seroglicoid*, care conține în molecula sa glucide, este solubil, necristalizabil, iar pe de altă parte de *cristal-albumină*, care nu conține glucide, este mai puțin solubilă și cristalizabilă.

Albuminele sînt proteine foarte solubile în apă, fiecare moleculă de albumină înconjurîndu-se de un înveliș de molecule de apă, care conferă stabilitate dispersiei coloidale.

Scanned with OKEN Scanner

Greutatea moleculară a serumalbuminelor este de circa 66 000, mai mică decît a celorlalte fracțiuni proteice din plasmă, fapt care face ca, împreună cu punctul izoelectric acid și încărcătura electrică negativă, să aibă o importanță deosebită în osmoză și coloidosmoză. Forma moleculelor de serumalbumină este încă insuficient de binecunoscută. Ea pare să fie aproape sferică sau elipsoidală, în care raportul axelor nu depășește niciodată cifrele 3 sau 4. Dimensiunile moleculei de serumalbumină sînt variabile, cele mai mici avînd un diametru de circa 38 Å.

În plasma sanguină, moleculele de albumină sînt încărcate electronegativ. Încărcătura electrică a moleculei de serumalbumină este dată, pe de o parte, de grupările carboxilice încărcate negativ și, pe de altă parte, de grupările aminice, guanidinice și imidazolice ale radicalilor de aminoacizi încărcate pozitiv. La pH-ul fiziologic predomină încărcătura negativă dată de grupările carboxilice, la care se adaugă un număr mic de ioni de clor prezenți în plasmă.

În condiții fiziologice, albuminele serice asigură într-o proporție de 80% presiunea coloidosmotică a plasmei (28 mm Hg sau 0,037 atm). Explicația participării albuminelor cu un coeficient atît de mare la realizarea presiunii coloidosmotice constă în unele caracteristici fizice ale acestora, care le diferențiază de celelalte fracțiuni proteice, și anume: greutatea moleculară mică, concentrația plasmatică mare, hidrosolubilitatea mare, încărcarea electronegativă mare, stabilitatea coloidală crescută, forma aproape sferică și dimensiunile mici ale moleculei, la care se adaugă disociația electrolitică.

Studiul comparativ al compoziției în aminoacizi a albuminelor de diferite specii a arătat că albuminele serice sînt asemănătoare la om, la cal și la vițel. De asemenea s-a arătat că, față de celelalte fracțiuni proteice din plasmă, albumina se deosebește prin lipsa aproape totală a triptofanului din molecula sa și prin conținutul bogat în lizină și în cistină. Numărul aminoacizilor care intră în constituția unei molecule de albumină este foarte mare. Astfel, în compoziția chimică a unei molecule de serumalbumină intră 550 de aminoacizi, din care 77 de molecule de acid glutamic, 44 de acid aspartic, 55 de lizină, 42 de valină și 65 de leucină. În ultimul timp s-a dovedit că, în cantități mici, în compoziția chimică a unor albumine intră și unele glucide.

Din punct de vedere structural, molecula de serumalbumină se prezintă ca un lanț polipeptidic unic, foarte lung, format din

Scanned with OKEN Scanner

cei 550 de aminoacizi. Ea nu este nici dreaptă, nici complet desfășurată, ci repliată sau strînsă într-o formă relativ compactă, aproape sferică. Replierile sale sînt menținute prin 17 legături de sulf, care leagă diferitele segmente ale lanțului într-o structură flexibilă, formată din mai multe bucle. Extremitatea N-terminală a acestei molecule este reprezentată de acidul aspartic, iar extremitatea C-terminală de leucină.

Albuminele serice se formează în ficatul animalelor, fapt dovedit de cercetările cu izotopi radioactivi. În mod normal, o celulă hepatică sintetizează aproximativ $7 \cdot 10^3$ molecule de serumalbumine pe secundă. Rolul albuminelor serice în desfășurarea proceselor vitale este deosebit de important. În patologia umană scăderea acestei fracțiuni proteice din plasmă sub o anumită limită poate genera tulburări atît de grave, încît să ducă la moartea organismului. S-a demonstrat că albuminele joacă rolul de transportori ai diferitelor substanțe, intervin în echilibrul acido-bazic al sîngelui (menținerea constantă a pH-ului) și în procesele osmoreglatoare.

Sub forma complexelor disociate, albuminele plasmatice fixează și vehiculează glucidele, lipidele, pigmenții, sărurile, vitaminele, hormonii și diferite substanțe medicamentoase. S-a demonstrat că din cantitatea totală de acizi grași din serul sanguin, care este de $5 \cdot 10^{-4}$ moli, numai 10^{-8} moli se află în stare liberă circulantă, restul fiind legat de albumine sub forma unor complexe lipoproteice. Albuminele serice sînt astfel principalii acceptori de acizi grași puși în libertate prin dezagregarea lipoproteinelor sub acțiunea exercitată asupra acestora de către așa-numitul factor de clarificare, adică de lipoprotein-lipaza serică specifică.

Albuminele serice fixează și transportă diferiți cationi și anioni, ca, de pildă, cei de calciu, magneziu, plumb, zinc, mercur, bicarbonat, citrat, nitrat etc. Aproape 50% din calciul seric este legat de albuminele din ser, între calciul legat de proteine și cel ionic existînd un anumit echilibru dinamic, care are un rol determinant în menținerea ionilor de calciu la un nivel constant. Proteinele care conțin calciu reprezintă astfel o rezervă mobilă de calciu pentru organism în procesele de osificare, coagulare și excitabilitate neuromusculară. Capacitatea organismului de a regla concentrația serică a ionilor de calciu depinde direct de cantitatea de albumine din ser și de gradul de saturare a acestora cu calciu. Modificări cantitative ale albuminelor serice atrag după ele modi-

Scanned with OKEN Scanner

ficări ale calciului seric, ceea ce reflectă diminuarea capacității organismului de a regla concentrația calciului ionizat din serul sanguin.

O mare importanță pentru procesele vitale o au complexele pe care le formează albuminele cu diferiții hormoni, ca, de pildă, cei tiroidieni și suprarenali (steroizi). Formarea complexelor dintre albumină și hormonii tiroidieni, de exemplu tirozina și triiodotironina, accelerează transferul hormonilor de la glanda tiroidă la țesuturile receptoare, albuminele participînd în același timp la reglarea concentrației plasmatice a hormonilor liberi din sînge. Albuminele serice, mai mult decît alte proteine din plasmă, formează complexe cu hormoni steroizi. Astfel, adăugarea în serul sanguin a diferite concentrații de hormoni steroizi este urmată de fixarea acestora de către albumină în proporție de 72—82% pentru hidrocortizon, 57—75% pentru cortizon și 83—85% pentru corticosteron și dezoxicorticosteron. Hormonii sexuali (testosteron, foliculină) sînt fixați de albuminele plasmatice în proporții și mai mari decît hormonii corticosuprarenali amintiți mai sus. Dintre hormonii estrogeni, estradiolul și estrona sînt legați în proporție de 98—99%. Mecanismul prin care hormonii steroizi se leagă de proteinele plasmatice nu este încă binecunoscut, dar se presupune că albuminele posedă diferiți centri specifici la care aderă acești hormoni. Faptul că saturarea albuminelor cu un anumit hormon steroid nu stînjenește fixarea altui hormon steroid constituie un argument în favoarea acestei ipoteze.

Formarea complexelor albumino-steroidice este în funcție de variațiile pH-ului din mediu și reclamă o cantitate mare de energie (4,4—62 cal/mol); ea este supusă unor importante variații fiziologice și patologice. Capacitatea proteinelor serice de a fixa corticosteroizii și alți hormoni steroizi crește apreciabil în timpul sarcinii. Fixarea hormonilor steroizi de către proteinele serice are o mare importanță biologică. Formarea complexelor cu proteinele face ca hormonii legați de acestea să fie mai greu transferați din plasmă în țesuturi, ceea ce protejează organismul împotriva unor serii de tulburări ce ar apărea în mod inevitabil în cazul hipersecreției hormonilor respectivi și a creșterii concentrației lor plasmatice. În plus, există observații care arată că hormonii legați de proteine sînt mult mai puțin activi decît hormonii liberi sau decît formele glicuronoconjugate ale acestora.

Sărurile biliare secretate de către ficat sînt, de asemenea, legate de albumine, acțiunea toxică a acestora fiind mult atenuată prin

Scanned with OKEN Scanner

formarea de complexe albumină-săruri biliare. Astfel, acțiunea hemolizantă a dezoxicolatului de sodiu este diminuată în ser datorită complexelor formate cu albuminele serice. O dovadă a acestui fapt constă în aceea că îmbogățirea serului în albumine împiedică hemoliza prin săruri biliare. În sfîrșit, substanțele medicamentoase, în marea lor majoritate, sînt legate și transportate de către albuminele plasmatice. S-a demonstrat că atropina, pilocarpina, chinina, stricnina, morfina, novocaina și altele sînt fixate de către proteinele plasmatice, ca și preparatele de antimoniu, atoxilul, tartratul de bismut, substanțele digitalice etc.

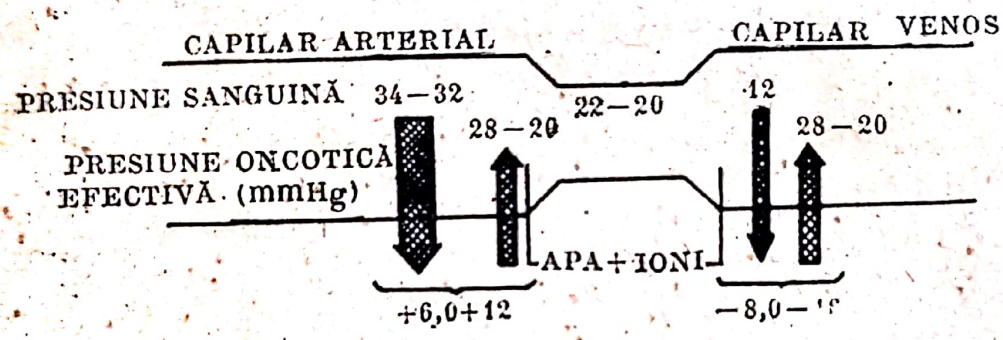
Știm că proteinele se comportă ca baze în mediu acid și ca acizii în mediu bazic, cu alte cuvinte au proprietăți amfoterice. Albuminele, ca și celelalte proteine plasmatice, participă la reglarea echilibrului acidobazic al sîngelui datorită acestor proprietăți. În cursul proceselor metabolice se formează, după cum se știe, în mod permanent diferiți acizi, ca acidul sulfuric, fosforic, clorhidric, carbonic, lactic. De asemenea, în diversele procese patologice, ca diabet și insuficiență hepatică, apar în sînge cantități exagerate de corpi cetonici (acetona, acid β-hidroxibutiric și acid acetilacetic), care au tendința de a scădea pH-ul sanguin. Menținerea pH-ului la o valoare constantă, de aproximativ 7,4, chiar în stările patologice este în mare măsură rezultatul intervențiilor proteinelor plasmatice. În acest caz, sistemul-tampon poate fi exprimat sub forma unei fracții în care numitorul este constituit din proteine acid slab nedisociat, iar numărătorul din proteine acid disociat.

Un alt rol al albuminelor în sîngele organismelor animale este acela de a participa împreună cu alte substanțe la procesele de osmoreglare, care au loc la nivelul țesuturilor. Presiunea osmotică a plasmei depinde de substanțele cristaloide și coloidale care intră în compoziția sa. În mod normal, un litru de plasmă conține circa 9 g de electroliți, 1 g de glucoză, 0,40 g de uree, 1,5—2,5 g de colesterol și 75—80 g de proteine. Deși cantitatea de proteine care se găsește în plasmă sub formă coloidală depășește în greutate cantitatea de electroliți, coeficientul de participare a proteinelor la presiunea osmotică a plasmei reprezintă doar 1/200 din întreaga valoare a acestei presiuni, adică 28 mm Hg. Explicația acestui fenomen constă în faptul că presiunea osmotică este direct proporțională cu numărul particulelor dizolvate și invers proporțio-

Scanned with OKEN Scanner

nală cu mărimea acestora. S-a constatat că aproximativ 80% din presiunea coloidosmotică a serului se datorește serumalbuminelor.

Presiunea osmotică a proteinelor plasmatice (presiunea coloidosmotică), deși are valori foarte mici comparativ cu cele ale presiunii osmotice a sîngelui, este totuși deosebit de importantă în dinamica schimburilor de lichide în sistemul plasmă-endoteliu capilar-lichid interstițial. Aceste schimburi sînt sub dependența a două forțe antagoniste : presiunea de filtrare, echivalentă cu presiunea sanguină, capilară, diminuată de către presiunea hidrostatică a lichidului interstițial, și forța de atracție, care corespunde cu diferența dintre presiunea osmotică a proteinelor serice și cea a proteinelor



16. Efectele presiunii coloidosmotice la nivelul capilarelor (după Polonovski)

din lichidul interstițial. La nivelul capilarului arterial, rezultanta algebrică a acestor două forțe este pozitivă (6—12 mm Hg). Ca urmare a acestui fapt, apa împreună cu o parte din substanțele cristaloide filtrează prin peretele capilar, trecînd în lichidul interstițial. La nivelul capilarului venos se petrece fenomenul invers, datorită predominanței forței de atracție, rezultanta algebrică a celor două forțe antagonice fiind negativă (—8 pînă la —16 mm Hg) (fig. 16). Este ușor de înțeles că la acest nivel apa și electroliții urmează o cale inversă, trecînd din lichidul interstițial în lumenul capilarului venos. De remarcat că de-a lungul capilarului presiunea de filtrare scade în mod gradat, în timp ce presiunea osmotică crește ușor, datorită unui proces de hemoconcentrație produs prin trecerea apei și a electroliților în lichidul interstițial.

Presiunea osmotică este relativ constantă atît la nivelul capilarului arterial, cît și la al celui venos, datorită nedifuzibilității relative a proteinelor plasmatice prin peretele capilar în condiții

normale. Aceasta explică menținerea unui echilibru între sînge și lichidul interstițial, precum și între sînge și cavitățile seroase. În condiții patologice însă, acest echilibru este tulburat, putînd duce la hiperhidratări extracelulare sau la producerea de transsudate sau exsudate la nivelul cavităților seroase. Astfel, factorii care produc o scădere a presiunii sanguine sau o creștere a presiunii osmotice a plasmei determină o resorbție de lichide din spațiul interstițial în torentul circulator și invers; factorii care cresc presiunea sanguină sau scad presiunea osmotică efectivă a proteinelor plasmatice favorizează transsudarea în cavitățile seroase și apariția edemelor.

Serumalbumina, care se izolează astăzi din plasma umană pe scară industrială, este utilizată tot mai des în terapeutică. Administrarea de serumalbumine sub formă de soluție concentrată, în cazurile în care se pierd multe albumine, ca, de pildă, în arsurile întinse, are ca efecte imediate mărirea volumului sanguin circulant și redresarea presiunii coloidosmotice a plasmei, creșterea secreției de urină și stimularea proceselor nutritive și de reechilibrare a bilanțului azotat. Studii experimentale au arătat că administrarea de albumină la animalul cu carență de proteine alimentare reușește să-l mențină în echilibru azotat și ponderal timp de mai multe luni. Cercetări efectuate cu ajutorul albuminei marcate (marcarea lizinei din albumine) au arătat că după șase zile de la administrarea intravenoasă de albumină marcată la cîine repartiția lizinei marcate este următoarea : 46% în plasmă și lichidele interstițiale; 12% în structura hematiilor și 34% în structura diferitelor țesuturi (ficat, tiroidă etc). Alte cercetări efectuate pe bolnavii care au primit albumină marcată cu J^{131} au dus la concluzia că albumina administrată prin injecții intravenoase este degradată și apoi utilizată de către țesuturi pentru nevoile lor metabolice, îndeosebi pentru biosinteza proteinelor tisulare.

Globulinele sînt proteine de formă globulară sau ovulară cu o greutate moleculară în jur de 150 000, conținînd în molecula lor în anumite proporții, în afară de aminoacizi, și unele glucide. O caracteristică generală a globulinelor este aceea că aceste proteine sînt precipitate de o soluție de sulfat de amoniu 50% saturată și coagulează prin căldură. După solubilitatea lor în apă globulinele au fost împărțite în două mari categorii : *euglobuline*, proteine insolubile în apă distilată, dar solubile în prezența unor cantități mici de electroliți, și *pseudoglobuline*, proteine solubile în apă distilată, deci în absența electroliților. O mare

Scanned with OKEN Scanner

parte din globuline sînt cristalizabile. În grupul globulinelor sînt cuprinse o diversitate considerabilă de subgrupuri de proteine individualizate, care se deosebesc între ele prin diferite caracteristici fizice, chimice și biologice.

În lumea vegetală, globulinele se găsesc îndeosebi în semințe depozitate ca substanțe de rezervă. De exemplu, în semințele leguminoaselor și oleaginoaselor, care conțin *conglutină* (în semințele de lupin) *fazeolină* (în semințele de fasole albă,) *glicinină* (în boabele de soia), *legumină* (în boabele de fasole, mazăre și linte), globulinele formează aproximativ jumătate din conținutul total în proteine al acestora.

În semințele oleaginoaselor au fost izolate : *amandina* din migdale; *arachina* din semințele de *Arachis*; *conglutina* din semințele de lupin; *corilina* din alune; *edestina* din semințele de cînepă și boabele de grîu; *globulina* din semințele de bumbac și de dovleac. Aceste globuline se obțin destul de ușor în stare cristalină, cînd sînt dizolvate în soluții de clorură de sodiu. Edestina formează săruri cristaline cu acizii și bazele; cristalele sărurilor de edestină sînt solubile în apă. Semințele de cereale conțin și ele globuline, dar în cantități mai mici. Ceva mai bogate în globuline sînt semințele de ovăz.

Globulinele au mai fost izolate și din alte plante, ca de exemplu : cartofi *(tuberina)*, spanac, tomate, diferite ciuperci etc. În semințele multor plante au fost găsite proteine asemănătoare globulinelor, pe care cercetătorii le-au denumit *crioproteide* și care sînt analoge serumglobulinelor umane.

Globulinele vegetale au un caracter ceva mai acid decît albuminele vegetale, datorită conținutului mare în acid asparagic și glutamic, care, așa cum am văzut mai înainte, sînt acizi monoaminodicarboxilici. Spre deosebire de albumine, globulinele sînt insolubile în apă, în schimb majoritatea lor se dizolvă în soluții diluate de săruri neutre (NaCl, Na_3SO_4 etc.), de acizi și de baze, fiind însă ceva mai puțin insolubile decît globulinele animale.

Din soluțiile saline, globulinele precipită la adăugarea unei cantități mai mari de apă sau prin mărirea concentrației în săruri, îndeosebi a sulfatului de amoniu. La fierberea soluțiilor, globulinele coagulează mult mai greu decît albuminele și deseori incomplet. Între diferitele globuline vegetale există însă cîteodată deosebiri destul de mari cu privire la solubilitate și la coagulare. Multe globuline vegetale s-au obținut în stare cristalină. Unele dintre acestea se dizolvă în soluții diluate de săruri, mai ușor la cald

Scanned with OKEN Scanner

decît la rece, ceea ce permite purificarea lor prin recristalizare. S-a putut totuși dovedi că majoritatea globulinelor vegetale cristalizate nu au o constituție unitară.

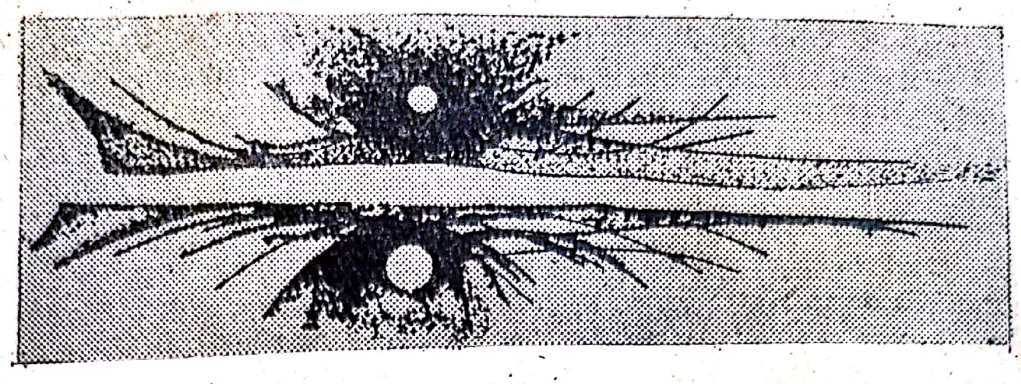
Metodele care au permis cercetătorilor să separe diferitele fracțiuni proteice din regnul vegetal, dar mai ales din cel animal, sînt ultracentrifugarea, electroforeza și cromatografia pe coloane schimbătoare de ioni. Este important să spunem cîteva cuvinte despre aceste metode, deoarece denumirea fracțiunilor globulinice separate din diverse medii biologice, ca, de exemplu, plasma, lichide interstițiale etc., este dată după rezultatele obținute prin aceste metode.

Ultracentrifugarea este o metodă care permite clasificarea proteinelor după greutatea moleculară a fiecărei fracțiuni și, într-o oarecare măsură, după dimensiunile acestor macromolecule. Principiul metodei constă în supunerea particulelor proteice dintr-o soluție coloidală la o accelerație foarte mare cu ajutorul unei centrifugi de mare viteză (ultracentrifugă). Viteza de centrifugare este de ordinul 60 000 de rotații/minut, corespunzînd unui cîmp centrifugal mediu de 250 000 g. Cu ajutorul unui dispozitiv optic se înregistrează pe o peliculă fotosensibilă migrarea particulelor proteice, care se face în funcție de timp. Aceste particule proteice sînt reperate în raport cu variațiile indicelui de refracție a mediului lichid în care se găsesc. Fiecare zonă proteică separată se traduce pe curba de separare printr-un croșet sau vîrf similar celui din electroforeză. În cazul unei substanțe omogene, care este supusă centrifugării sau al unui amestec de substanțe cu aceeași constantă de centrifugare, deplasarea particulelor constitutive se face într-un bloc comun. Invers, în cazul unor substanțe cu constante de centrifugare diferite, deplasarea se face în mai multe blocuri, care se separă cu atît mai repede, cu cît viteza de migrare este mai mare. Viteza de migrare, care se notează cu S, se exprimă în unități Svedberg și desemnează viteza de sedimentare a unei molecule într-un cîmp centrifugal cunoscut. O unitate convențională Svedberg (1 S), care se mai numește și coeficientul sau constanta de sedimentare, se definește ca fiind egală cu 10^{-13} unități absolute (cm/s/dină/g). Constantele de sedimentare (ultracentrifugare) sînt cuprinse între 1 și 200 S la o temperatură de +20°C. Aceste constante sînt valabile în funcție de greutatea moleculară a proteinelor respective și de diferența dintre densitatea acestora și cea a solventului.

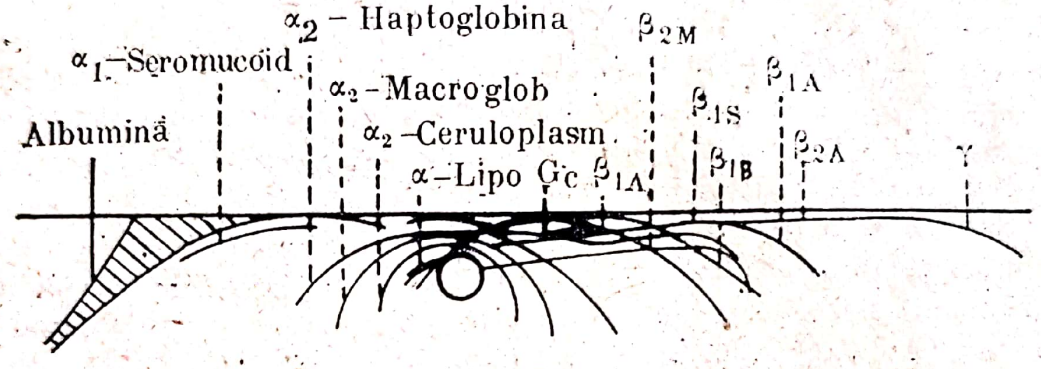
Folosindu-se metoda centrifugării asupra serului uman și animal, au putut fi puse în evidență trei componente proteice principale după constanta lor de sedimentare, notate la început cu literele A, G și M.

Componenta A, în care se încadrează cea mai mare parte a proteinelor serice, se sedimentează foarte lent. Acestea au o constantă de sedimentare mică (4 S),

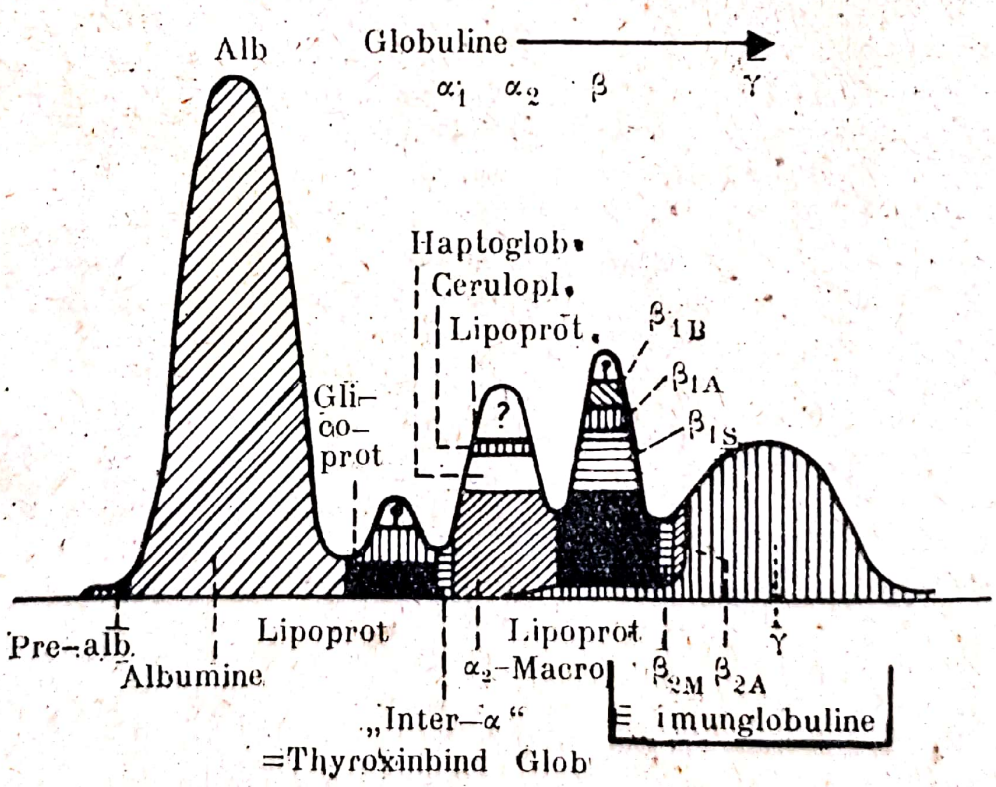
Scanned with OKEN Scanner



a)



b)



c)

17: Electroforeza serului normal:

a — fotografia unei imunoelectroforeze; *b* — schema simplificată a imunoelectroforezei, cu denumirea unora dintre fracțiunile identificate; *c* — comparație între electroforeza pe hîrtie și imunoelectroforeză (după Hitzig)

Scanned with OKEN Scanner

datorită greutății lor moleculare relativ mici (circa 60 000), fiind constituite în cea mai mare parte din albumine, de unde și denumirea de componentă A.

Componenta G este intermediară atît sub raport cantitativ, cît și ca viteză de sedimentare, avînd o constantă de 7 S, datorită greutății ei moleculare intermediare (în jur de 160 000). Această componentă este constituită aproape în întregime din γ-globuline, de unde și denumirea ei de componentă G.

Componenta M se caracterizează prin viteză de sedimentare foarte mare, constantă de sedimentare (19 S) și greutate moleculară (1 000 000) mari. Această componentă poartă denumirea de macroglobulină, de unde și termenul mai vechi de componentă M.

Electroforeza este o metodă care permite separarea proteinelor în raport cu migrarea lor într-un cîmp electric. La un pH ușor alcalin (8,6), proteinele sînt încărcate cu sarcini electrice negative, fapt care explică migrarea lor spre anod. Această migrare se efectuează cu atît mai repede pentru o anumită fracțiune proteică, cu cît punctul izoelectric al acesteia se găsește la un pH mai scăzut. Electroforeza reprezintă unul dintre cele mai bune mijloace de studiu a proteinelor din diferitele umori ale organismelor, deoarece permite izolarea și punerea în evidență a diferitelor fracțiuni proteice. Într-adevăr, cu ajutorul acestei metode, proteinele din diferitele umori au putut fi separate în următoarele grupuri mari: albuminele, globulinele α_1, α_2, β_1, β_2, γ și fibrinogenul. Această metodă a fost perfecționată în decursul timpului, așa încît printr-una din variantele ei (imunoelectroforeza), despre care vom vorbi mai jos, au putut fi separate din plasma animală peste 20 de fracțiuni proteice.

În tipul clasic de electroforeză, descris de Tiselius, migrarea și separarea fracțiunilor proteice din ser se poate face într-o cuvă în formă de U, la extremitățile căreia sînt montați doi electrozi care dezvoltă o diferență de potențial de circa 800 V. După mai multe ore de migrare se efectuează citirea cu un sistem optic care înregistrează variațiile indicelui de refracție; înainte de trecerea curentului electric și de separare a proteinelor, acest indice este identic în toată masa lichidului din cuvă. După migrarea diverselor fracțiuni proteice apar puncte cu un indice de refracție mai mare, corespunzînd diferitelor zone în care se concentrează fracțiunile proteice respective. Întrucît variațiile indicelui de refracție sînt proporționale cu concentrațiile proteinelor, sistemul optic trasează o curbă pe care sînt înscrise concentrațiile diferitelor fracțiuni (pe ordonată) în funcție de distanța parcursă (pe abscisă). Astfel, curba electroforetică prezintă un număr de croșete (vîrfuri) care corespund tot atîtor fracțiuni proteice, suprafața fiecărui croșet fiind proporțională cu concentrația proteică respectivă (fig. 17).

În electroforeza pe hîrtie se folosește ca suport al solventului hîrtia de filtru, simplificîndu-se astfel substanțial tehnica de lucru. Banda de hîrtie de filtru îmbibată într-o substanță-tampon (pH = 8,6) este așezată într-o cuvă; pe ea se aplică picături din soluția proteică ce urmează a fi supusă separării electrofore-

Scanned with OKEN Scanner

tice. Prin această bandă de hîrtie trece timp de 10 ore un curent electric. După uscare, benzile sînt colorate cu albastru de bromfenol sau cu negru de naftalen, coloranți care posedă proprietatea de a fi fixați selectiv de către diversele fracțiuni proteice. Determinarea valorilor relative se face fie după metoda eluției, fie după cea densitometrică. Ca și electroforeza în coloană de lichid, electroforeza pe hîrtie separă fracțiunile proteice pe care le-am amintit mai sus: albuminele, α_1, α_2, β_1, β_2, γ-globulinele și fibrinogenul. Electroforeza pe hîrtie prezintă însă marele avantaj de a fi mult mai simplă decît cea în coloană de lichid. În tabelul 3 sînt figurate valorile relative ale diverselor fracțiuni proteice din plasma umană în funcție de vîrstă, determinate după această metodă.

Tabelul 3

Concentrația proteinelor plasmatice la omul normal, în raport cu vîrsta (după Țurkova)

Fracția	Indici statistici	Vîrsta în ani					
		18—19	20—24	25—29	30—39	40—49	50—54
PROTEINEMIA g %	M	7,78	7,62	7,54	7,41	7,52	7,65
	σ	±0,6	±0,61	±0,52	±0,48	±0,54	±0,65
	m	±0,12	±0,08	±0,07	±0,05	±0,08	±0,18
ALBUMINE (valori relative)	M	55	55,6	56,1	54,5	52,9	51,6
	σ	±4,48	±6,73	±5,52	±5,59	±5,12	±6,84
	m	±0,93	±0,72	±0,79	±0,62	±0,71	±1,9
α_{k1}-GLOBULINE (valori relative)	M	5,8	6,1	5,9	6,5	5,99	8,0
	σ	±1,4	±2,04	±4,53	±2,29	±2,08	±2,49
	m	±0,29	±0,26	±0,36	±0,25	±0,29	±0,7
α_2-GLOBULINE (valori relative)	M	10,3	8,5	8,5	8,8	9,16	10,1
	σ	±1,44	±2,5	±1,87	±2,47	±1,77	±2,63
	m	±0,3	±0,31	±0,27	±0,27	±0,24	±0,72
β-GLOBULINE (valori relative)	M	10,2	10,9	10,1	10,5	11,55	11,8
	σ	±1,72	±2,13	±3,31	±2,04	±1,96	±1,62
	m	±0,35	±0,27	±0,47	±0,23	±0,27	±0,45
γ-GLOBULINE (valori relative)	M	18,7	18,9	19,4	19,7	20,4	18,5
	σ	±3,51	±3,05	±3,31	±3,44	±2,77	±3,08
	m	±0,73	±0,38	±0,47	±0,38	±0,37	±0,85

Scanned with OKEN Scanner

Imunoelectroforeza, în care se folosește ca mediu, pe de o parte, geloza în locul hîrtiei, iar pe de altă parte reacția imunologică antigen-anticorp, este una dintre variantele mai perfecționate ale metodei electroforetice. Imunoelectroforeza reprezintă combinarea succesivă a electroforezei în geloză cu o precipitare imunochimică (reacție imunologică), în care proteinele serice joacă rolul de antigen, anticorpii precipitați fiind aduși dinafară prin aplicarea unui ser imun (de iepure sau de cal cu rol de antiglobuline umane). La locul de întîlnire al fracțiunilor proteice separate electroforetic și a anticorpilor corespunzători din serul imun, ca urmare a reacției antigen-anticorp se formează un număr de linii de precipitare egal cu cel al fracțiunilor proteice izolate (fig. 17). Prin această metodă s-a demonstrat complexitatea diverselor fracțiuni proteice ale proteinelor plasmatice care apar cu prilejul electroforezei pe hîrtie, relativ omogene.

Prin imunoelectroforeză au fost puse în evidență circa 20 de fracțiuni proteice, dintre care cele mai cunoscute sînt: fracțiunea serumalbuminică, care se traduce prin formarea unei zone mari de precipitare către anod, precedată de două arcuri mici ce corespund fracțiunilor proteice rapide (o glicoproteină ρ_1 și o lipoproteină denumită ρ_2); α_1-globulinele formează 4—5 arcuri, dintre care cele mai importante sînt α_1-glicoproteina Schultze, α_1-lipoproteina și orosomucoidul; α_2-globulinele, care se traduc prin formarea a cel puțin cinci arcuri; α_2-macroglobulinele, ceruloplasmina, haptoglobina și o fracțiune lipoproteică lentă corespunzătoare β-lipoproteinelor, care se separă prin electroforeza pe hîrtie; fracțiunea β_1-globulinică formează cinci arcuri, cea mai lentă fiind siderofilina (β_1S); β_2-globulinele formează cel puțin două arcuri: β_2A și β_2M; γ-globulinele prezintă un arc de precipitare foarte alungit, a cărui extremitate anterioară migrează rapid, acoperind regiunea β-globulinelor.

În sfîrșit, cromatografia pe coloană (de adsorbție sau schimb de ioni), cromatografia pe hîrtie (microcromatografia, radiocromatografia) și cromatografia în strat subțire sînt metode deosebit de valoroase pentru separarea, identificarea și purificarea proteinelor. În acest scop, schimbătorii de ioni pe bază de celuloză, cum ar fi DEAE-celuloza (dietilaminoetilceluloza), DEAE-dextranul (DEAE-Sephadex), CM-celuloza (carboximetil-celuloza), au dus la cele mai bune rezultate. Coloanele schimbătoare de ioni sînt alcătuite dintr-un tub de sticlă de mărimi variabile în care se introduce o suspensie de substanță solidă, organică sau anorganică, prezentînd proprietăți de schimb ionic. Suspensia se face într-un tampon de anumită concentrație, forță ionică și pH. După aceea se introduce la partea de sus a coloanei amestecul de substanțe de analizat, care se adsorb pe coloană în mod diferit, după coeficientul specific de adsorbție al fiecărui component din amestec. Ulterior se introduc tampoane diferite pentru a se elibera (elua) din coloană, în mod separat, fiecare componentă din amestec, în funcție de tamponul folosit.

Scanned with OKEN Scanner

Revenind acum la globuline, trebuie să arătăm că în regnul animal, mai mult decît în cel vegetal, globulinele sînt foarte răspîndite atît în mediul celular, cît și în cel extracelular. Dintre globuline, cele mai bine studiate sînt cele din serul sanguin (serumglobulinele), globulinele din lapte (lactoglobulinele), din țesutul glandei tiroide (tireoglobulinele) și altele.

Ca și în cazul albuminelor, vom insista îndeosebi asupra globulinelor serice, deoarece acestea au fost cel mai bine studiate. Globulinele din ser formează un grup eterogen, cu proprietăți fizice, chimice și biologice diferite. Cantitativ, ele reprezintă 35—45% față de celelalte două componente principale de proteine plasmatice, albumine și fibrinogen. Astăzi se cunosc peste 20 de fracțiuni proteice din grupul globulinelor serice, numărul lor fiind în continuă creștere, pe măsura perfecționării metodelor de fracționare. Fiecare dintre aceste fracțiuni are un rol biologic bine determinat. Așa, de pildă, fracțiunile β_2A , β_2M și γ-globulinele, pe care le vom prezenta mai amănunțit, au un rol determinant în apărarea organismelor față de infecții, în imunitate, de unde și termenul de imunoglobuline dat acestor proteine. Globulinele β_2A, β_2M și γ-globulinele prezintă proprietăți fizico-chimice și imunologice foarte asemănătoare.

Globulinele β_2 A sînt proteine care conțin circa 10% glucide. Ele nu formează o fracțiune omogenă, deoarece prin metoda ultracentrifugării pot fi fragmentate în cel puțin trei fracțiuni cu constante de sedimentare diferite. Componenta principală a acestui grup este globulina β_2A, cu greutatea moleculară de 160 000 și reprezentînd 80% din totalul globulinelor β_2A. Numeroși autori au arătat că anticorpii antitetanici, antidifterici și antitifici sînt globuline β_2A.

Globulinele β_2M, numite și *macroglobuline*, formează un grup de proteine cu o greutate moleculară mare, în jur de 1 000 000. Moleculele macroglobulinelor sînt considerate de unii autori ca fiind formate din unirea mai multor molecule cu greutate moleculară mai mică prin intermediul unor punți de sulf.

În organismul animal, macroglobulinele se formează în splină, în ganglionii limfatici și în măduva osoasă, fapt demonstrat și experimental cu ajutorul culturilor de țesuturi. Rolul biologic al macroglobulinelor este strîns legat de proprietățile imunologice ale acestora. S-a putut demonstra că mai mult de 5% din totalul de anticorpi ai unui organism animal sînt macroglobuline. Astăzi se știe că biosinteza γ-globulinelor și a anticorpilor are loc în

Scanned with OKEN Scanner

celulele plasmatice imature sau pe cale de maturare. La omul normal există un echilibru perfect între formarea și distrugerea γ-globulinelor, care se traduce prin menținerea constantă a concentrației plasmatice a acestor fracțiuni proteice.

Rolul biologic fundamental al γ-globulinelor este acela de a participa la procesele de apărare a organismului animal împotriva invaziei microbiene. Globulinele anticorpi se fixează în mod specific pe suprafața microorganismelor, făcîndu-i susceptibili de a fi fagocitați de celulele sistemului reticulo-endotelial. γ-globulinele se fixează nu numai în microorganisme, ci și în alte substanțe, cum ar fi, de pildă, diferiți produși de metabolism, hormoni, diferiți produși de degradare celulară. După fixare, γ-globulinele transportă aceste substanțe fie la locul de utilizare, fie la cel de eliminare. S-a putut constata că glucidele, lipidele, bilirubina (pigment biliar), fierul, cuprul, diferiți hormoni și alte substanțe sînt fixate și transportate de către γ-globuline. Toate globulinele din serul sau din plasma animalelor și a omului fixează și transportă glucidele, iar majoritatea lipidelor serice sînt vehiculate de către α- și β-globulinele din ser (vezi mai departe lipoproteinele).

Protaminele sînt proteine cu greutate moleculară mică, cuprinsă între 2 000 și 5 000, și cu caracter bazic. Se presupune că aceste proteine ar constitui fracțiunea proteică a nucleoproteinelor. Caracterul bazic al acestor proteine este dat de prezența în molecula lor a aminoacizilor bazici : arginina, lizina și histidina. În molecula protaminelor nu intră toți aminoacizii cunoscuți, lipsind cistina, cisteina, metionina, triptofanul și tirozina. Protaminele sînt solubile în apă, nu coagulează prin căldură și nu sînt hidrolizate de enzimele proteolitice. Ele sînt localizate mai ales în nucleele celulare, unde se găsesc combinate cu acizii nucleici. Se cunosc mai multe tipuri de protamine, ca : *salamina, clupeina, ciprina, sturina,* care au fost izolate din diferite specii de pești.

Histonele sînt proteine simple, sau holoproteine, care au o structură mai complexă și o greutate moleculară mai mare decît protaminele. Spre deosebire de protamine, histonele nu trec prin membrane semipermeabile (nu dializează), dar, ca și protaminele, au un caracter bazic, datorită concentrației mari de arginină, lizină și histidină. De asemenea, spre deosebire de protamine, histonele coagulează la cald, sînt hidrolizate de fermenții proteolitici și conțin în molecula lor aminoacizii cu sulf : cistina, cisteina și metionina.

Scanned with OKEN Scanner

Histonele se găsesc în organismele vii, de obicei asociate cu acizii nucleici, constituind heteroproteinele numite nucleoproteine. Ele sînt localizate îndeosebi în membranele celulare. Existența histonelor în regnul vegetal nu este sigură, deoarece nu s-a reușit să se identifice pînă în prezent histone tipice în plante.

Prolaminele sînt holoproteine care se găsesc în plante. Aceste proteine au un caracter acid, datorită conținutului ridicat în acid glutamic și prolină. Ele sînt sărace în lizină și triptofan. Din cauza conținutului scăzut în acești doi aminoacizi esențiali, valoarea nutritivă a prolaminelor este mică. Prolaminele sînt proteine insolubile în apă și de cele mai multe ori greu solubile în soluții de săruri. În prezența acizilor și a bazelor, în concentrație mai mare, prolaminele formează săruri solubile în apă. Interesant că, spre deosebire de toate celelalte holoproteine, prolaminele sînt solubile în alcoolul etilic 70% și în alcoolii metilic, propilic, benzilic.

În natură, prolaminele se găsesc îndeosebi în semințele de cereale, existența acestora părînd a fi o caracteristică biochimică a acestor plante, deoarece ele nu au fost găsite la alte specii vegetale și lipsesc din regnul animal. Astăzi se cunosc mai multe tipuri de prolamine, dintre care cele mai bine studiate sînt: *avenina* din boabele de ovăz, *cafirina* din semințele de sorg, *gliadina* din boabele de grîu și de secară, *hordeina* și *binina* din boabele de orz și *zeina* din boabele de porumb. Este interesant de remarcat faptul că orezul nu conține prolamine.

Tipurile de prolamine amintite nu sînt unitare, ci sînt formate din fracțiuni cu structură foarte apropiată. Așa, de exemplu, gliadina și zeina pot fi fracționate fiecare în trei componente, care se deosebesc prin greutatea moleculară, conținutul în carbon și azot, solubilitatea și activitatea optică.

Glutelinele sînt holoproteine ce se găsesc atît în semințele cerealelor, alături de prolamine, cît și în alte organe ale plantelor, îndeosebi în citoplasma frunzelor verzi.

Dintre glutelinele cunoscute, cele mai bine studiate sînt: *glutenina* din boabe de grîu, *orizenina* (sau *orzeina*) din boabele de orez, *glutelina* din boabele de orz. Glutenul reprezintă un amestec format din gliadină, glutenină, glucide, grăsimi și alte substanțe în care predomină gliadina + glutenina (72—81%).

Proteinele din gluten conferă făinii de grîu proprietatea de a forma cu apa un aluat, care reține în mod caracteristic bioxidul de carbon format în timpul dospirii, dînd pîinii structura

Scanned with OKEN Scanner

poroasă cunoscută. Conținutul mic în prolamine constituie motivul pentru care din făina de orez nu se poate face pîine. Raportul cantitativ între gliadină și glutenină determină în mare măsură elasticitatea glutenului și prin aceasta proprietățile de panificație ale făinii. În ceea ce privește conținutul în aminoacizi al glutenului, se remarcă bogăția acestuia în acid glutamic și conținutul relativ mic în triptofan și lizină, fapt care-i conferă glutenului o valoare nutritivă limitată. Datorită conținutului mare în acid glutamic, făina de grîu, respectiv glutenul, sînt folosite pentru prepararea industrială a acidului glutamic și a glutamatului de sodiu.

Scleroproteinele reprezintă un grup eterogen de holoproteine, care se aseamănă între ele prin caracteristici fizice, chimice și biologice comune. Scleroproteinele sînt complet insolubile în apă și în soluții slab acide sau slab alcaline, ca și în soluții saline. Sînt proteine mai bogate în oxigen decît în azot și nu conțin de loc triptofan, iar unele dintre ele nici tirozină. În general nu sînt atacate de enzimele proteolitice și au o structură fibrilară. Din punct de vedere biologic, scleroproteinele se caracterizează prin aceea că nu se găsesc în regnul vegetal, ci numai în cel animal, intrînd în structura țesuturilor cărora le conferă o rezistență mecanică crescută. Dintre tipurile de scleroproteine, cele mai bine cunoscute sînt: colagenele, elastinele, keratinele și miozinele.

Colagenele sînt proteine care conțin în molecula lor cantități mari de glicocol, prolină, hidroxiprolină și hidroxilizină. Aceste proteine sînt insolubile în apă și rezistente la acțiunea enzimelor proteolitice, cu excepția colagenazei. Prin încălzire îndelungată în apă, colagenul se transformă în gelatină, substanță proteică cu proprietăți fizico-chimice diferite față de proteina nativă. Într-adevăr, spre deosebire de colagen, gelatinele sînt solubile în apă și atacate de fermenții proteolitici. Acest fapt este important din punct de vedere biologic, deoarece la om fermenții din tubul digestiv atacă numai țesutul conjunctiv al cărnii ingerate care a fost în prealabil preparată culinar.

Colagenul este o proteină fibrilară. După Pauling și Carey, structura colagenului e constituită din unități cilindrice paralele cu axa fibrei, formate din cîte trei catene peptidice, fiecare răsucită în spirală în jurul aceleiași axe, fiind legată de cealaltă prin legături de hidrogen (vezi fig. 18). Configurația triplu elicoidală a lanțurilor polipeptidice care alcătuiesc molecula de colagen este în perfectă concordanță cu datele obținute prin analiza spectrală

Scanned with OKEN Scanner

cu radiații X și infraroșii. Colagenele au mare importanță biologică pentru organismele animale, constituind cea mai mare parte din materialele de susținere (țesutul conjunctiv). În așa-numitele boli de colagen sau colagenoze, proprietățile fizice și chimice ale acestor proteine se modifică sub acțiunea agenților patologici.

Elastinele sînt proteine care formează substratul material al fibrelor elastice, iar *scheletinele* sînt proteine fibrilare care formează substanța de susținere la unele nevertebrate.

Keratinele sînt proteine care intră în constituția epidermei, părului, unghiilor, copitelor, penelor, coarnelor, lînii, caracterizate prin conținutul lor bogat în sulf (2—6%). Ele conțin cantități mari de cistină. Keratinele sînt insolubile în apă și în soluții diluate de acizi sau baze. Ele nu sînt hidrolizate de enzimele proteolitice din tubul digestiv (pepsină, tripsină etc.).

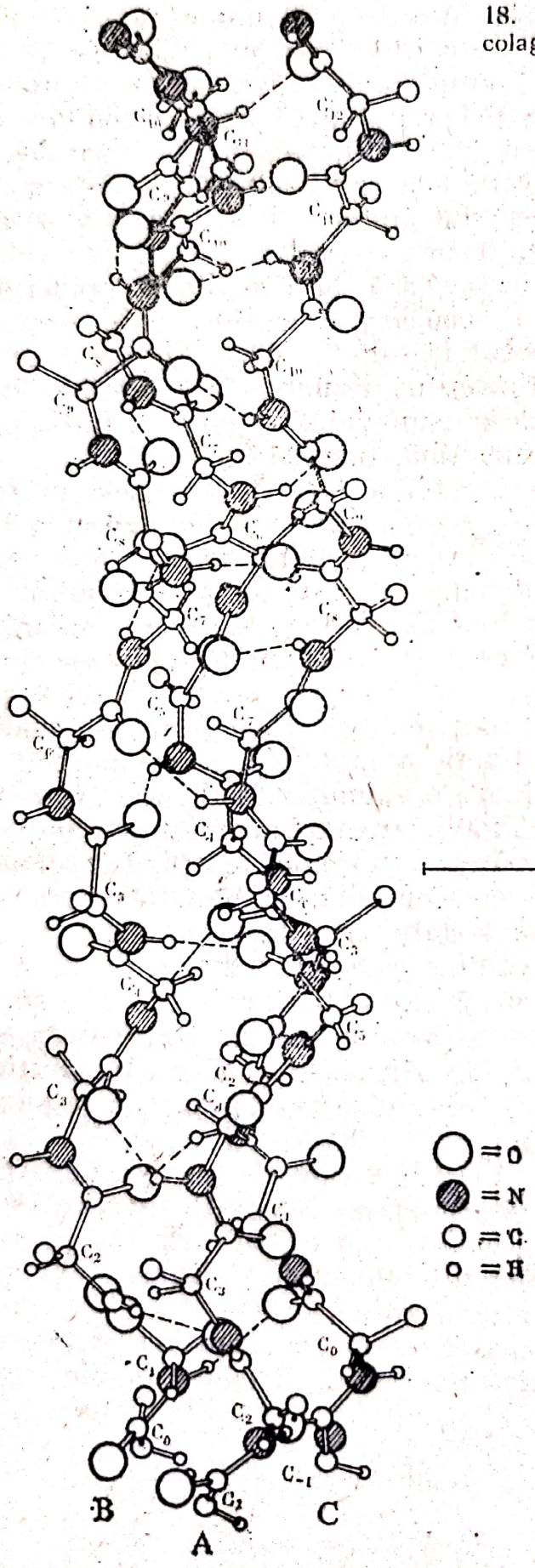
Insolubilitatea în apă și rezistența față de enzimele proteolitice se datoresc prezenței legăturilor de sulf din molecula lor. În ultima vreme, structura fibrilară a keratinelor a fost mult studiată. Astfel s-a putut demonstra că prezența legăturilor de sulf în molecula keratinelor conferă acesteia rezistență mecanică, elasticitate, plasticitate, precum și rezistență chimică și enzimatică.

Keratinele au fost primele proteine a căror structură s-a studiat cu ajutorul spectrelor de difracție a radiațiilor X. După cum se știe, firul de păr sau de lînă are o anumită elasticitate, de aceea el poate fi extins în anumite limite, revenind apoi la forma inițială. Umiditatea face ca firul de păr să se întindă, revenind la dimensiunea inițială o dată cu scăderea umidității. (Această proprietate a firului de păr este folosită la fabricarea higrometrelor cu care se determină umiditatea aerului). Fenomenul de extindere și de revenire la normal a firului de păr are la bază modificări în structura moleculelor fibrei de keratină din acesta. Într-adevăr, s-a putut demonstra că în firul de păr natural molecula keratinei nu reprezintă o catenă peptidică extinsă la maximum, ci corespunde unei catene peptidice pliate.

După gradul extinderii moleculei, keratinele au fost împărțite în α-keratine și β-keratine. Cercetări moderne (Svanbeck, 1963) au contribuit la emiterea ipotezei potrivit căreia molecula de α-keratină ar fi formată din lanțuri polipeptidice dispuse cilindro-elicoidal în 3 straturi concentrice (vezi fig. 14).

Între proteinele fibrilare asemănătoare cu keratina se numără și *fibroina* din mătase, *miozina* musculară, *fibrinogenul* din sînge,

Scanned with OKEN Scanner



18. Structura triplu elicoidală a colagenului (după Ramachandran)

Scanned with OKEN Scanner

epidermina din piele, proteinele din flagelul unor bacterii etc. Importanța biologică a tuturor acestor proteine este extrem de mare, deoarece ele participă la formarea structurilor membranelor. Datorită proprietăților lor elastice, keratinele iau parte la o serie de procese energetice (contracția musculară), homeostatice (coagularea sîngelui), la formarea țesuturilor (schelet, piele etc.).

În cele ce urmează vom prezenta cîteva dintre proteinele complexe sau heteroproteine. Așa cum s-a arătat mai înainte, aceste tipuri de proteine sînt formate dintr-o holoproteină și o grupare prostetică neproteică de natură chimică diferită. Din grupul heteroproteinelor fac parte fosfoproteinele, glicoproteinele, lipoproteinele, cromoproteinele și nucleoproteinele.

Fosfoproteinele sînt heteroproteine care conțin în molecula lor, ca grupare prostetică, acidul fosforic. Ele sînt insolubile în apă și în soluții acide, dar solubile în alcool. Acidul fosforic se leagă de molecula proteică prin intermediul unei combinații esterice între aminoacizii din lanțul polipeptidic și acidul fosforic. Tipurile cele mai importante de fosfoproteine sînt : cazeina din lapte, vitelina, vitelenina și fosfovitina din gălbenușul de ou.

Cazeina este o fosfoproteină de o mare importanță biologică și nutritivă, deoarece conține în molecula sa toți aminoacizii necesari nutriției. Cazeina se găsește în laptele mamiferelor, diferind relativ puțin de la o specie la alta. În laptele de vacă, cazeina se află sub formă de sare de calciu (cazeinat de calciu,) constituind 80% din proteinele acestuia, iar în laptele de femeie sub formă de cazeinat de potasiu. Această proteină se coagulează prin acțiunea acizilor diluați și a unor enzime, ca pepsina și kimozina animalelor tinere. Coagularea cazeinei este o etapă importantă în procesul digestiei, forma solubilă a acesteia fiind mai greu atacată de fermenți. Prin electroforeză, cazeina se separă în trei fracțiuni : α-, β- și γ-cazeina. Prin urmare, ea este o proteină neomogenă. Primele două fracțiuni conțin un procent mai mare de fosfor decît ultima fracțiune. Moleculele de cazeină sînt formate din mai multe lanțuri peptidice, care conțin cantități relativ mari de acid glutamic, prolină și leucină. În cazeină se găsesc și cantități mici de cisteină.

Vitelina și *vitelenina* sînt fosfoproteine care se găsesc în gălbenușul de ou în combinație cu fosfatidele, formînd așa-numitele cenapse lipovitelinice și lipoviteleninice. Fosfovitina reprezintă cea mai mare parte a proteinelor din gălbenușul de ou. Ea conține

Scanned with OKEN Scanner

20% fosfor și are o greutate moleculară de 20 000. Are importanță deosebită în dezvoltarea embrionului.

Glicoproteinele sînt proteine complexe, sau heteroproteine, care conțin în molecula lor, ca grupare prostetică, diferite glucide. Cînd predomină partea glucidică, compușii proteoglucidici se numesc *mucopolizaharide*, iar cînd predomină partea proteică aceștia poartă numele de *glicoproteine*. Glicoproteinele formează cu apa soluții cu caracter vîscos, filant. Ele nu sînt denaturate de căldură și nici nu precipită cu unii acizi. Au o greutate moleculară variabilă, care nu depășește cifra de 100 000. Gruparea prostetică a glicoproteinelor este formată din următoarele tipuri de glucide : hexoze (galactoză, glucoză, manoză), pentoze (ramnoză, xiloză, arabinoză, pentoză), hexozamine în general acetilate (glucozamină, galactozamină), acizi uronici (acid glicuronic, acid galacturonic) și acizi sialici. O parte din glicoproteine conțin, în afară de acești compuși, și acid sulfuric.

Mucinele sînt glicoproteine secretate de glandele diferitelor mucoase. Ele reprezintă un amestec complex de mucopolizaharide și glicoproteine propriu-zise. Cea mai mare parte a proteinelor din serul sanguin conțin glucide în proporție variabilă, fracțiunile α și β fiind cel mai bine reprezentate. Se presupune că legătura din partea proteică și cea glucidică a moleculei de glicoproteină s-ar stabili între grupările acide ale fragmentului prostetic și grupările bazice ale fragmentului proteic. În ultima vreme, cercetătorii au stabilit că treonina, cisteina și acidul aspartic sînt implicați în legăturile ce se stabilesc între polizaharid și proteină (legături esterice). Glicoproteinele sînt foarte răspîndite în organismele vii. Ele formează cea mai mare parte din substanța fundamentală a țesuturilor conjunctive, o mare parte din proteinele plasmei și ale secrețiilor glandulare.

Dintre glicoproteinele din serul sanguin al animalelor și al omului, cele mai importante și mai bine studiate sînt : orosomucoidul, haptoglobinele, ceruloplasmina, transferina sau siderofilina și fibrinogenul.

Orosomucoidul este o α_1 glicoproteină cu greutate moleculară în jur de 41 000, care se caracterizează printr-o solubilitate mare și un conținut foarte bogat în glucide. Orosomucoidul este cea mai stabilă și mai solubilă proteină plasmatică. Ea nu precipită sub acțiunea căldurii și a soluțiilor acide. Această stabilitate s-ar datora cantităților mari de glucide (aproximativ 41%) pe care le conține molecula de orosomucoid. Rolul biologic al acestei proteine

Scanned with OKEN Scanner

nu este pe deplin cunoscut. S-a presupus că ea ar interveni în procesele de coagulare, inhibînd transformarea protrombinei în trombină. Unii cercetători consideră că orosomucoidul ar deriva din substanța fundamentală a țesutului conjunctiv, deoarece în anumite boli, în care această substanță fundamentală e descompusă, cantitatea de orosomucoide din plasmă crește.

Haptoglobinele sînt glicoproteine care au proprietatea fundamentală de a se combina cu hemoglobina, realizînd un compus stabil. Aceste proteine, care conțin în molecula lor circa 20 % glucide, migrează în cîmpul electroforetic cu α_2 proteinele. Pînă în prezent se cunosc trei tipuri principale de haptoglobine, izolate electroforetic pe gel de amidon : haptoglobina 1—1, haptoglobina 2—1, haptoglobina 2—2. Haptoglobina de tip 1—1 formează o combinație echimoleculară cu hemoglobina. Spre deosebire de celelalte două tipuri, această haptoglobină este omogenă din punct de vedere fizico-chimic și imunologic. Haptoglobinele 2—1 și 2—2 sînt considerate ca polimeri ai haptoglobinei 1—1. Ele au capacitatea de a lega mai multe molecule de hemoglobină. Greutatea moleculară a haptoglobinei 1—1 este de 90 000, iar a celorlalte două de 220 000.

Partea proteică a haptoglobinelor ia naștere în ficatul animalelor și al omului, iar partea prostetică, adică glucidele, în alte țesuturi. La nou-născut, haptoglobinele lipsesc sau se găsesc în cantități foarte mici, ele apărînd în primele luni de la naștere, așa încît după 2—4 luni concentrația acestor proteine serice atinge 98 % din aceea a adultului.

Rolul biologic al haptoglobinelor este legat, pe de o parte, de metabolismul substanțelor care alcătuiesc țesutul conjunctiv, iar pe de altă parte de cel al hemoglobinei. Se presupune că haptoglobinele formează materialul de construcție și reconstrucție a țesutului conjunctiv. Ele se comportă ca adevărați transportori de hemoglobină. Într-adevăr, aceste proteine fixează hemoglobina liberă din plasmă sub forma complexului haptoglobină-hemoglobină. Prin greutatea sa moleculară mare de aproximativ 155 000, acest complex nu poate să traverseze glomerulul renal, împiedicînd astfel eliminarea hemoglobinei libere prin urină, ceea ce contribuie la economisirea fierului, care este redat organismului pentru a fi folosit mai departe în circuitul metabolic.

Ceruloplasmina este o glicoproteină cu greutate moleculară în jur de 151 000, care conține opt atomi de cupru în moleculă. Această proteină, izolată, purificată și cristalizată din plasma umană, are

Scanned with OKEN Scanner

culoarea albastră din cauza cuprului din molecula sa. Ea migrează electroforetic cu α_2 globulinele. După cîte se pare, ceruloplasmina se formează la nivelul ficatului. Ea fixează și transportă cuprul seric. Rolul enzimatic al acestei proteine nu este încă pe deplin lămurit. Se presupune că ar interveni în reacțiile de oxidare ale adrenalinei, acidului ascorbic etc.

Transferina sau *siderofilina* este o glicoproteină plasmatică cu greutate moleculară în jur de 90 000, care are proprietatea fundamentală de a fixa fierul. Această proteină nu este omogenă, ci reprezintă un complex de proteine cu structură și funcții asemănătoare. Într-adevăr, pînă în prezent au fost identificate, cu ajutorul electroforezei în gel de amidon aproximativ 14 tipuri de transferine. Fierul care a pătruns în plasma sanguină prin mucoasa intestinală în urma procesului de absorbție, cît și fierul care a ajuns în plasmă din organele de depozitare ale acestuia (splină, ficat) este legat de către transferină și transportat la nivelul măduvei osoase. Aici el este cedat globulelor roșii tinere, pentru a fi folosit la biosinteza hemoglobinei. Pînă în prezent nu se cunoaște pe deplin nici natura legăturilor dintre atomii de fier și molecula de transferină, nici mecanismul prin care globulele roșii tinere din măduva osoasă captează fierul eliberat de transferină.

Fibrinogenul este o glicoproteină cu greutate moleculară în jur de 330 000, care se găsește în plasma sanguină. Are structură fibrilară, lungimea moleculei fiind de aproximativ o mie de ori mai mare decît lățimea acesteia. Omul adult dispune de circa 45 g de fibrinogen, formarea acestei proteine realizîndu-se la nivelul sistemului reticulo-endotelial (țesut conjunctiv). Fibrinogenul servește ca substrat al procesului coagulării datorită proprietății lui de a se gelifica, transformîndu-se în *fibrină*. După cum se știe, reacția fundamentală care stă la baza procesului de coagulare a sîngelui constă tocmai în transformarea fibrinogenului în fibrină sub acțiunea unei enzime, cunoscută sub numele de trombină. Rolul fibrinei este acela de a obstrua vasele deschise și de a contribui la refacerea țesutului lezat. Într-o plagă, de exemplu, fibrina este primul material plastic care înlocuiește lipsa de substanță, iar orientarea fasciculului de fibrină constituie tiparul după care se dispun celulele țesutului conjunctiv reparator.

Studiul modificărilor moleculare care însoțesc procesul de transformare a fibrinogenului solubil în fibrină insolubilă sub acțiunea enzimatică a trombinei (proteină cu rol enzimatic în coagulare) a arătat, pe de o parte, o creștere a lungimii moleculei, iar pe de altă

Scanned with OKEN Scanner

parte o creştere a greutăţii moleculare. Într-adevăr, molecula de fibrină are lungimea de trei ori mai mare, iar greutatea moleculară de şapte ori mai mare decît a fibrinogenului. Acest fapt a determinat pe cercetători să considere că natura procesului de transformare a fibrinogenului în fibrină ar consta, în ultimă instanţă, în polimerizarea monomerului iniţial rezultat prin acţiunea trombinei asupra fibrinogenului. Această ipoteză a fost confirmată de studiul coagulării cu ajutorul microscopului electronic şi a spectrului de difracţie cu radiaţii X, care arată că fibrina care rezultă din fibrinogen are o structură cristalină sub formă de ace ce se înlănţuie ca o reţea de fibre. În ochiurile acestei reţele se aglomerează globulele roşii, trombocitele şi globulele albe, constituind în ansamblu aşa-numitul cheag roşu. Retractîndu-se progresiv după 30 minute de la formarea sa, cheagul pune în libertate un lichid clar, galben-pal, care constituie aşa-numitul ser sanguin; acesta nu conţine nici un fel de globule şi nici fibrinogen. Fibrina care rezultă din fibrinogen este insolubilă în soluţii saline.

Lipoproteinele sînt proteine complexe, sau heteroproteine, a căror grupare prostetică este formată din diferite tipuri de lipide, ca : lecitină, cefalină, gliceride, acizi graşi etc. Ele intră în constituţia diferitelor structuri subcelulare (membranele celulare, mitocondrii etc.), precum şi în lichidele circulante, ca, de pildă, în plasma sanguină. Complexele lipoproteice au caracter macromolecular. Pentru a ilustra complexitatea lor, să luăm exemplul unei molecule de β-lipoproteină din plasma sanguină, cu greutatea moleculară de 2 500 000. Într-o astfel de moleculă intră două lanţuri proteice cu greutate moleculară de 250 000, formate din 750 de aminoacizi cu caracter acid şi 500 de aminoacizi cu caracter bazic, 600 de molecule de fosfatide, 600 de molecule de colesterol liber, 1 000 de molecule de colesteride şi 200 de molecule de gliceride. Ansamblul tuturor acestor molecule legate între ele formează aşa-numitele *cenapse lipoproteice*, în cadrul cărora fosfolipidele joacă un rol esenţial, servind drept legătură între lipidele neutre, steroli şi proteine. Lipoproteinele au un rol deosebit de important în fiziologia celulară, datorită proprietăţii de a fi în acelaşi timp şi hidrofile, şi hidrofobe (partea proteică este hidrofilă, iar cea lipidică hidrofobă). Această proprietate favorizează reacţiile chimice care provoacă modificări ale solubilităţii substratului sau trecerea unuia dintre constituienţi de la o fază la alta. Ţesutul nervos, şi în special creierul, este foarte bogat în lipoproteine, fapt care atestă rolul acestora în fiziologia celulei nervoase.

Scanned with OKEN Scanner

Lipoproteinele din plasma sau din serul sanguin al animalelor și omului reprezintă forma fundamentală de transport a lipidelor și a substanțelor liposolubile ca, de exemplu, carotenii și sterolii. Lipoproteinele plasmatice sînt constituite din patru mari grupuri de substanțe, care se deosebesc prin densitatea, forma, greutatea moleculară, mobilitatea electroforetică și constituția lor chimică.

În ordinea descrescîndă a densității lor, acestea sînt : kilomicronii, β-lipoproteinele, α-lipoproteinele și albuminele legate de acizi grași neesterificați.

Înainte de a prezenta aceste lipoproteine serice, să spunem cîteva cuvinte despre *ultracentrifugarea de flotație*, metodă folosită pentru diferențierea lipoproteinelor pe baza coeficientului lor de sedimentare. Principiul care stă la baza ultracentrifugării de flotație este separarea diverselor fracțiuni lipoproteice pe baza densității lor. Se știe că prezența fracțiunii lipidice în molecula lipoproteinelor face să se micșoreze mult densitatea acestora în raport cu proteinele serice. Dacă se supune ultracentrifugării serul introdus într-un mediu de densitate adecvată, lipoproteinele, în loc să se sedimenteze, vor pluti la suprafață, de unde și denumirea de ultracentrifugare de flotație. Așadar, flotația este fenomenul opus sedimentării. Practic se folosește un mediu (soluție de NaCl) cu densitatea de 1,063 g/m, fiecare fracțiune lipoproteică avînd o anumită constantă de flotație, desemnată cu inițialele S_f, în raport cu densitatea acestui mediu. Aplicînd metoda ultracentrifugării succesive în medii cu densități mai mari decît cea a apei, și în ordine crescîndă, s-au putut izola mai multe fracțiuni lipoproteice, care se caracterizează prin densități și constante de flotație bine determinate.

În raport cu densitatea lor, lipoproteinele din ser se împart în două mari categorii, și anume lipoproteinele cu densitate mare și lipoproteinele cu densitate mică. În grupul lipoproteinelor cu densitate mică sînt incluse majoritatea β-lipoproteinelor, care au o viteză de flotație mare, iar în grupul celor de densitate mare intră α-lipoproteinele. La rîndul lor, β-lipoproteinele au fost împărțite în patru mari fracțiuni.

Kilomicronii formează un grup foarte eterogen de lipoproteine, care se deosebesc între ele prin densitatea și mărimea lor moleculară. Constanta de flotație a kilomicronilor variază în limite extrem de largi : de la $S_f = 400$ pentru kilomicronii cei mai mici la $S_f = 75\,000$ pentru kilomicronii cei mai mari. Practic, kilomicronii pot fi considerați ca particule de grăsime de formă sferică, cu un diametru de circa 0,50 μ și cu densitatea cea mai mică dintre toate lipoproteinele.

Scanned with OKEN Scanner

Lipoproteinele serice sau plasmatice sînt solubile în apă. Soluțiile lipoproteinelor cu $S_f = 12 - 400$ au un aspect opalescent, datorită cantității mari de trigliceride pe care le conțin, iar cele de lipoproteine cu $S_f = 0-12$ sînt transparente și de culoare galbenă, datorită prezenței carotenului.

Metodele moderne de determinare a greutății moleculare, a formei și a dimensiunii moleculelor au permis studierea amănunțită a caracterelor fizice ale lipoproteinelor. Astfel s-a constatat că greutatea moleculară a lipoproteinelor cu densitate mare, adică a α-lipoproteinelor, este cuprinsă între 200 000 și 400 000, iar cea a lipoproteinelor de densitate mică, adică a β-lipoproteinelor, variază de la 10^6 la 10^8. Studiile efectuate cu ajutorul microscopului electronic au lămurit în mare parte problema formei și a dimensiunilor moleculare ale lipoproteinelor. Astfel, moleculele lipoproteinelor cu densitate mică au formă sferică plată, cu diametrul de circa 200 Å.

Compoziția chimică a grupării prostetice din molecula lipoproteinelor este foarte complexă, iar raportul dintre cantitatea de proteine și de lipide care intră în compoziția macromoleculei lipoproteice variază în funcție de fracțiunea lipoproteică considerată. S-a constatat că lipoproteinele cele mai dense sînt cele mai bogate în proteine. Partea lipidică a macromoleculei lipoproteice este constituită din grăsimi neutre (trigliceride), fosfolipide, colesteride, colesterol neesterificat (liber), ca și acizi grași liberi sau neesterificați. Proporțiile în care aceste tipuri de lipide intră în molecula lipoproteinei diferă de la o fracțiune lipoproteică la alta.

Partea proteică a macromoleculei lipoproteice diferă puțin de la o fracțiune lipoproteinică la alta. După unii autori, partea proteică a cenapselor lipidoproteice ar avea caracterul unei glucoproteine, deoarece aceasta conține glucide în proporție de 1—2 %.

Rolul biologic esențial al lipoproteinelor din plasmă constă în funcția de transport a acizilor grași, a sterolilor, a carotenoizilor, a vitaminelor și a hormonilor liposolubili. Majoritatea lipidelor plasmatice sînt vehiculate de către proteine sub forma cenapselor lipoproteice. Ele circulă o dată cu plasma, nu în stare liberă, ci sub forma legăturilor protein-lipidice, care conferă acestor substanțe o hidrosolubilitate foarte mare. Această formă de transport apare ca o necesitate, deoarece lipidele sînt insolubile în apă.

După absorbția intestinală, acizii grași proveniți din digestia grăsimilor alimentare sînt transportați de către vasele limfatice sub formă de kilomicroni, în compoziția cărora intră 90 % acizi

Scanned with OKEN Scanner

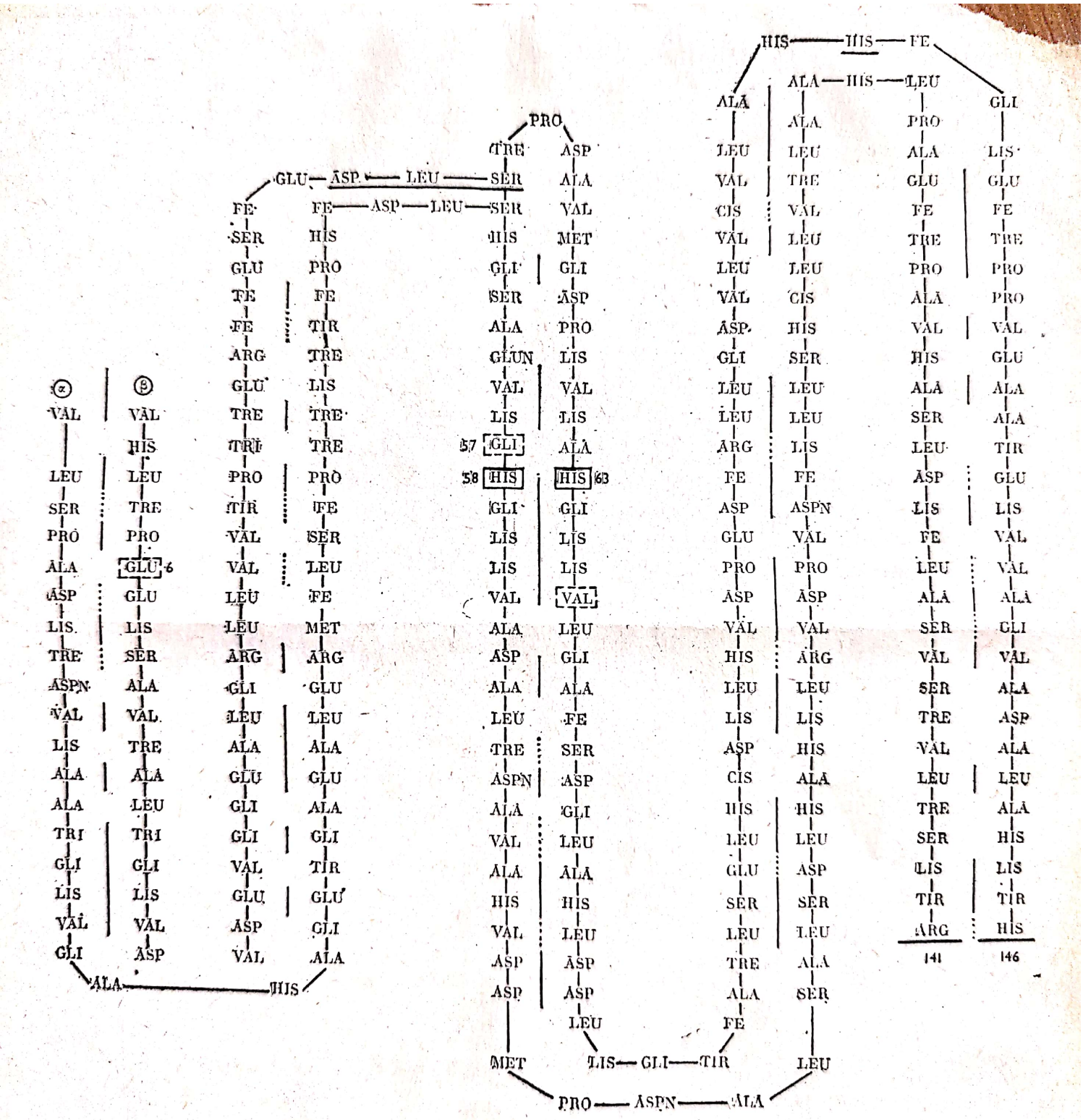
grași, iar restul de 10% este format din fosfolipide, colesterol, esteri ai colesterolului și cantități mici de proteine. Acești kilomicroni ajung în circulația generală, după care sînt transformați rapid. La omul normal, ritmul absorbției intestinale a lipidelor după un prînz bogat în aceste substanțe este mult mai mare decît cel de metabolizare, fapt care explică de ce după aceste prînzuri bogate în lipide serul are aspect lactescent. Descompunerea kilomicronilor din ser este realizată de către o enzimă numită lipoproteinlipază, care scindează legăturile esterice ale trigliceridelor ce intră în constituția acestora. Acizii grași, eliberați prin lipoliză intravasculară, sînt captați, în parte, de către serumalbuminele din plasmă, cu care formează complexe lipidoprotidice solubile și neopalescente, iar în parte de către lipoproteinele α și β. După unii autori, lipoliza intravasculară a kilomicronilor ar avea o importanță mică din punct de vedere cantitativ, pentru că cea mai mare parte a gliceridelor din constituția acestora este captată de către ficat, care, supunîndu-le unei hidrolize rapide, eliberează acizii grași; aceștia din urmă intră apoi în circulația generală. De altfel, studii efectuate cu atomi marcați au arătat că ficatul deține rolul-cheie atît în descompunerea, cît și în formarea lipoproteinelor.

Cromoproteinele sînt proteine complexe, sau heteroproteine, care au ca grupare prostetică o substanță colorată. În acest grup eterogen sînt incluse cromoproteinele porfirinice cu funcție respiratoare, ca: hemoglobinele, citocromii, fermentul roșu respirator, catalazele, peroxidazele și cruorinele.

Hemoglobinele sînt proteine complexe a căror grupare prostetică este hemul. Ele dețin un rol important în transportul oxigenului necesar respirației celulare. Dintre proteinele cunoscute, hemoglobinele au fost cel mai bine studiate, reușindu-se să se determine structura lor pînă în cele mai mici amănunte. Molecula de hemoglobină este un tetramer constituit din patru catene polipeptidice și conține 574 de aminoacizi. Fiecărei catene îi corespunde cîte o moleculă de hem. Cercetările moderne au reușit să deosebească, atît la om, cît și la animale, mai multe tipuri de hemoglobine, cu caracteristici fizice, chimice și imunologice diferite.

Organismul omului normal elaborează în cursul vieții sale, în proporție variabilă cu vîrsta, trei tipuri de hemoglobine naturale, care au fost notate convențional cu litere A_1, A_2 și F. Globina, componenta proteică a hemoglobinei, este formată din patru catene polipeptidice, notate cu α, β, γ, δ, orientate în spațiu într-o ordine bine determinată. În figura 19 sînt reprezentate catenele α și β.

Scanned with OKEN Scanner



19. Structura catenelor α și β din molecula de hemoglobină (catena α conține 141 de aminoacizi; catena β, 146 de aminoacizi

În mod obișnuit, două catene identice se asociază, constituind jumătate din molecula de globină : α_2, β_2, γ_2, δ_2.

Catenele α care intră în structura hemoglobinei A_1, A_2 și F, sintetizate în tot cursul vieții, se compun din 141 de aminoacizi, a căror succesiune începe cu valina — leucina — serina etc. Catenele β, care se găsesc în mod normal numai în hemoglobina A_1, pentru care sînt caracteristice, se compun din 146 de aminoacizi. Lanțurile β nu conțin izoleucină. Catenele γ, caracteristice hemoglobinei F, sînt formate din înlănțuirea a 146 de aminoacizi, a căror succesiune începe cu glicocolul — histidina — fenilalanina. În sfîrșit, catenele δ, caracteristice hemoglobinei A_2, sînt compuse din 136 de aminoacizi, în secvență similară cu cei din catenele β, dar cu unele deosebiri.

Hemoglobina A_1 se compune din două catene α și două β. Ea este hemoglobina adultului normal, începînd să fie sintetizată din a 25-a săptămînă a vieții embrionare, astfel încît la naștere reprezintă 20 % din hemoglobina totală, la trei luni 50 %, la șase luni 90 %, iar la un an 95—99 %.

Hemoglobina F, numită și hemoglobină fetală, se compune din două catene α și două γ. Este sintetizată în cantități mari în timpul vieții embrionare, concentrația maximă întîlnindu-se între a 40-a și a 42-a săptămînă de la concepție, la naștere sau în zilele următoare. La un an de la naștere însă, hemoglobina fetală scade, atingînd o concentrație de 1—2%, concentrație întîlnită la adultul normal. Hemoglobina F se deosebește de hemoglobina adultului printr-o rezistență mare la alcali, afinitate crescută pentru oxigen, caracteristici imunologice specifice și compoziție în aminoacizi diferită. În unele boli, cantitatea de hemoglobină fetală crește.

Hemoglobina A_2 se compune din două lanțuri α și două δ. Această hemoglobină, a cărei concentrație normală la adult variază între 1 și 3%, nu este sintetizată de loc înainte de naștere. Deosebirile dintre hemoglobina A_1 și A_2 ale adultului constau în faptul că un rest de acid glutamic din hemoglobina A_1 este înlocuit cu un rest de alanină în hemoglobina A_2, precum și în alte substituiri de poziție a altor trei aminoacizi.

Dar, în afară de aceste trei tipuri de hemoglobine zise normale, au fost puse în evidență și tipuri de hemoglobină anormală. Numărul hemoglobinelor zise anormale este deosebit de mare (peste 50), fiind în continuă creștere. Explicația acestui fapt constă în aceea că este suficientă substituirea unui singur aminoacid într-una din cele patru catene polipeptidice care alcătuiesc molecula de hemo-

Scanned with OKEN Scanner

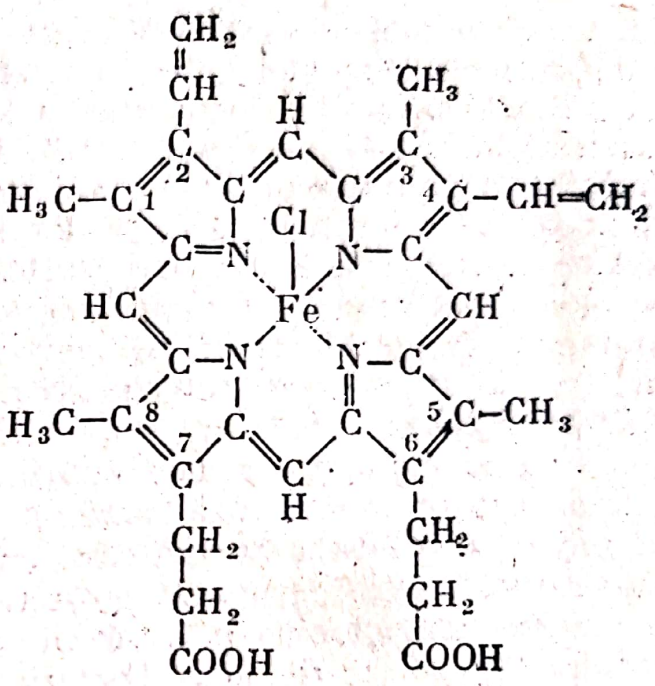
globină pentru ca aceasta să-și schimbe proprietățile fizice, chimice și imunologice. Acest fapt subliniază din nou importanța secvențializării aminoacizilor în determinismul diversității și specificității proteinelor din natura vie. În marea lor majoritate, hemoglobinele anormale se caracterizează prin modificări care se produc în structura catenelor α și β. Cele mai multe conțin cîte două catene patologice și două catene normale. Este de remarcat faptul că substituirile acelorași aminoacizi, dar în puncte diferite ale lanțurilor polipeptidice, dau naștere la hemoglobine diferite. Așa, de pildă, în hemoglobina C, acidul glutamic din poziția 6 a lanțului β este înlocuit prin lizină. Aceeași substituire în poziția 26 a aceluiași lanț dă naștere hemoglobinei E, ale cărei proprietăți sînt foarte diferite. Aceste deosebiri se explică prin structuri spațiale modificate ale moleculei, și anume în hemoglobina C modificarea are loc la suprafața moleculei, iar în hemoglobina E în profunzimea acesteia.

O parte din hemoglobinele anormale se găsesc în sîngele unor populații întregi (negrii din Africa, locuitorii din S.U.A. și din America de Sud etc.), fără a putea fi corelate cu anumite stări patologice. Studiul hemoglobinelor anormale a adus date noi cu privire la legătura dintre structura chimică și funcție, contribuind astfel la lămurirea mecanismului unor boli studiate de patologia moleculară.

Hemul reprezintă componenta colorată a hemoglobinelor și este același pentru toate hemoglobinele, indiferent de proveniența lor. El conține fier bivalent (Fe^{++}), care este legat de complexul molecular al hemoglobinei. Din punct de vedere chimic, hemul este un derivat al porfirinei cu fier în moleculă. În figura 20 este reprezentată formula chimică a unei porfirine. În timp ce hemul, partea prostetică a hemoglobinelor, are aceeași structură chimică pentru toate speciile, globinele, adică partea proteică a acestor heteroproteine, sînt diferite. Acestea din urmă conferă hemoglobinelor specificitatea de organ și de specie. Hemoglobina conține 96% globină și numai 4% hem. Nu se știe încă cu precizie care este tipul legăturii care unește hemul cu globina. Greutatea moleculară a hemoglobinei din sîngele mamiferelor este de 66 000 — 68 000. Fiecare moleculă de hemoglobină conține patru molecule de hem. Toate hemoglobinele au capacitatea de a fixa reversibil oxigenul, datorită fierului bivalent din molecula hemului. Compusul care se realizează între oxigen și hemoglobină poartă numele de oxihemoglobină. Proprietatea hemoglobinelor de a fixa oxigenul în

Scanned with OKEN Scanner

20. Structura hemului



mod reversibil este una dintre caracteristicile fundamentale ale acestor proteine, care le conferă rolul de rezervor și de transportor de oxigen în organism. Totodată, aceste proteine intervin în menținerea echilibrului acido-bazic în sîngele vertebratelor.

Hemoglobina din țesutul muscular poartă numele de *mioglobină*. Ea are același hem ca și hemoglobina din globulele roșii, dar se deosebește de aceasta prin componența globinică și prin greutatea sa moleculară. Mioglobina are o afinitate mult mai mare pentru oxigen decît hemoglobina din sînge, constituind rezerva de oxigen pentru țesutul muscular.

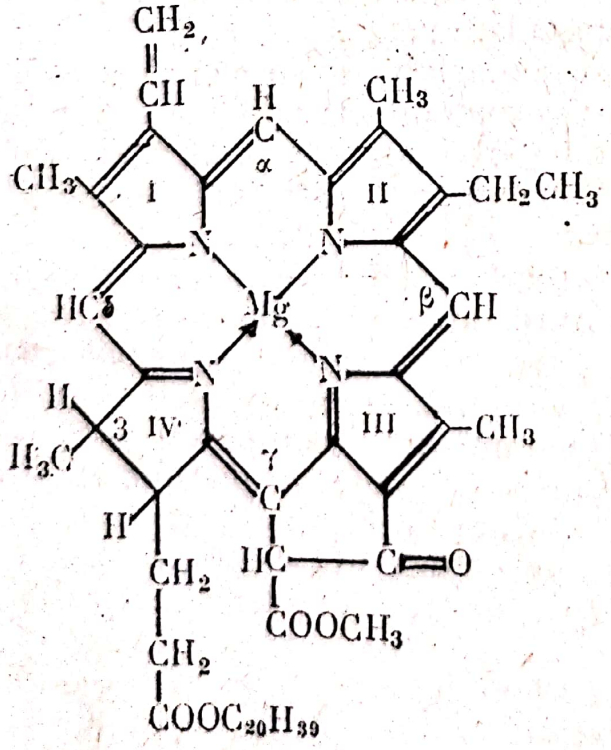
Cea mai importantă cromoproteină vegetală este *cloroglobina*, sau *cloroplastina*, a cărei grupare prostetică se compune din clorofilă. Cloroglobina este o proteină complexă, care conține în molecula sa, în afară de o holoproteină, și clorofilă, lipide și carotenoide în proporție de circa 22%. Această compoziție complexă arată că gruparea prostetică a cloroglobinei se compune nu numai din clorofilă, ci și din lipide. Într-adevăr, din frunzele de spanac, tutun, trifoi etc. s-au putut extrage substanțe complexe, numite clorofil-lipoproteine, care înglobează în structura lor și acizi ribonucleici.

Clorofila din organele verzi ale plantelor superioare și din algele verzi reprezintă un amestec format din două clorofile: *a* și *b*. Cloro-

fila *a* este o substanță asemănătoare din punct de vedere chimic cu porfirinele hemoglobinelor, dar, spre deosebire de acestea, în loc de fier conține magneziu (fig. 21). Clorofila *b* are o structură foarte asemănătoare cu aceea a clorofilei *a*, deosebindu-se de aceasta numai prin prezența unei grupări aldehidice în locul unei grupări metilice. Atît clorofila *a*, cît și clorofila *b* cristalizează cînd sînt izolate în stare pură. La majoritatea plantelor, raportul dintre clorofila *a* și *b* este de aproximativ 3 : 1, variind puțin în funcție de luminozitate. Cloroplastina din cloroplastele frunzelor verzi intervine în procesele de fotosinteză a substanțelor organice.

Leghemoglobina este o cromoproteină de culoare roșie, care a fost pusă în evidență în nodozitățile de pe rădăcinile plantelor leguminoase, unde activează bacteriile fixatoare de azot atmosferic. Ea are o structură asemănătoare cu cea a hemoglobinelor din sîngele vertebratelor, gruparea prostetică constînd dintr-o porfirină cu fier. Leghemoglobina pare să intervină în procesul de fixare a azotului atmosferic de către bacterii.

Clorocruorina se găsește în plasma unor viermi marini. Ea are greutate moleculară foarte mare (2 500 000—3 000 000), o componentă proteică diferită de cea a hemoglobinei vertebratelor și o afinitate mult mai mică pentru oxigen.



21. Structura clorofilei *a*

Hemocianimele, cromproteine care conțin cupru, se găsesc în corpul nevertebratelor. Enzimele care au ca grupare prostetică hemul poartă numele de hemenzime (de exemplu catalaza, peroxidaza, citocromoxidaza etc.) și vor fi descrise ulterior.

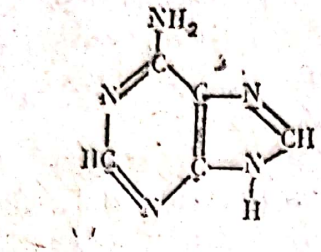
Nucleoproteinele sînt heteroproteine sau proteine complexe a căror grupare prostetică este reprezentată de acizii nucleici. Ele au un rol important în sinteza proteinelor, în diviziunea celulară și în transmiterea caracterelor ereditare. Nucleoproteinele au fost puse în evidență în toate celulele, ele intrînd în structura materiei vii începînd cu virusurile și terminînd cu mamiferele. Se găsesc în proporții mai mari în celulele în stare de proliferare activă (țesuturi tinere, cancere etc.).

După natura grupărilor prostetice, nucleoproteinele se pot împărți în două mari categorii : *dezoxiribonucleoproteine*, a căror grupare prostetică o formează acidul dezoxiribonucleic (ADN), și *ribonucleoproteine*, a căror grupare prostetică o formează acidul ribonucleic (ARN). Dezoxiribonucleoproteinele sînt localizate în nucleul celular, la nivelul cromozomilor, și au rolul de suport material al eredității, în timp ce ribonucleoproteinele sînt localizate atît în nucleul celular (la nivelul nucleolului și în sucul nuclear), cît și în citoplasmă și contribuie la biosinteza proteinelor.

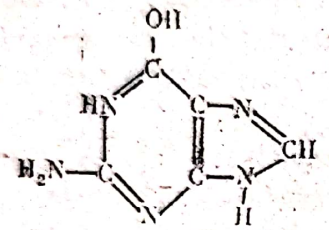
Componenta proteinică din molecula nucleoproteinelor face parte dintre proteinele bazice aparținînd protaminelor și histonelor, deci proteinelor cu o moleculă mică. După cum știm, caracterul bazic al protaminelor și histonelor se datorește prezenței preponderente a diaminoacizilor (arginină, histidină și lizină). Protaminele se găsesc în special în nucleoproteinele din celulele spermatice ale peștilor, iar histonele în nucleele majorității celulelor. Se cunosc și nucleoproteine în a căror constituție intră proteine bazice de alt tip decît protaminele și histonele sau care conțin proteine cu moleculă mare, de tipul albuminelor și globulinelor, deci proteine nebazice. Tipul de legătură pe care o realizează proteina bazică cu gruparea prostetică, în speță cu acizii nucleici, nu este pe deplin cunoscut.

Partea prostetică a nucleoproteinelor, și anume *acizii nucleici*, constituenți permanenți și ubicuitari ai materiei vii, sînt substanțe organice complexe, puternic polimerizate, care prin hidroliză eliberează acid fosforic, pentoze, baze azotate, nucleozide și nucleotizi. Compușii organici care intră în compoziția chimică a acizilor nucleici sînt : bazele purinice și pirimidinice, pentozele și acidul fosforic.

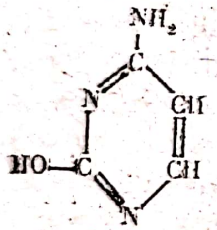
Scanned with OKEN Scanner



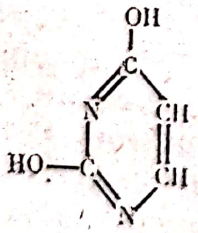
Adenină



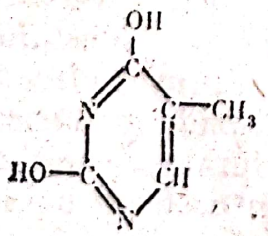
Guanină



Citozină



Uracil



Timină

Pentru a putea prezenta dificila problemă a macrostructurii acizilor nucleici și mecanismul prin care aceștia intervin în biosinteza proteinelor și în autoreproducerea materiei vii, să spunem cîteva cuvinte despre componentele de bază ale acestor macropolimeri. În structura acizilor nucleici intră : acidul fosforic, două baze purinice (adenina și guanina), trei baze pirimidinice (uracilul, citozina și timina) și două pentoze (riboza și dezoxiriboza). Din unirea unei baze azotate cu o pentoză se formează nucleozidele, iar din unirea unei baze azotate cu o pentoză și cu acidul fosforic rezultă compușii cunoscuți sub numele de nucleotide.

Bazele purinice și primidinice (fig. 22) sînt compuși heterociclici, răspîndiți în materia vie ; ei reprezintă constituenții de bază ai acizilor nucleici. Termenul de bază pirimidinică vine de la numele ciclului pirimidinic, un heterociclu aromatic care are în compoziția sa doi atomi de azot și patru de carbon. Termenul de bază purinică vine de la purină, un heterociclu dublu (imidazolo-pirimidinic), rezultat din fuzionarea ciclului pirimidinic cu un ciclu imidazolic, în care doi atomi de carbon sînt comuni ambelor heterocicluri.

Citozina (C), bază pirimidinică ce intră în compoziția tuturor acizilor nucleici, este din punct de vedere chimic 2-oxi-6-aminopiridină, *uracilul* (U), 2-6-dioxipirimidină, intră în structura acizilor ribonucleici, iar *timina* (T), 2-6-dioxi-5-metilpiridină, se găsește numai în compoziția acizilor dezoxiribonucleici.

Dintre bazele purinice care intră constant în compoziția acizilor nucleici fac parte adenina și guanina.

22. Principalele baze azotate din natura vie

Scanned with OKEN Scanner

Adenina (A) este din punct de vedere chimic 6-aminopurină. În natura vie ea se găsește atît sub formă liberă, cît și combinată. Intră în compoziția tuturor acizilor nucleici, precum și în aceea a coenzimei A. Produșii săi de oxidare sînt hipoxantina, xantina și acidul uric.

Guanina (G), ca și adenina, se găsește atît sub formă liberă, cît și combinată. Chimic, guanina este 2-amino-6-oxipurină, iar produșii săi de oxidare sînt xantina și acidul uric.

Componenta glucidică din structura acizilor nucleici poate fi formată din D-riboză, în cazul acidului ribonucleic, și din D-dezoxiriboză, în cazul acidului dezoxiribonucleic.

Pentozele sînt monozaharide cu cinci atomi de carbon, care, asemenea hexozelor (glucoză, fructoză etc.), se găsesc în natură sub formă ciclică. În stare liberă, ele au o structură piranozică, iar dacă sînt asociate sub formă de constituenți ai unor molecule mai complexe au o structură furanozică. Configurația spațială a pentozei din acizii nucleici este de tipul D-β-glicozidică, forma furanozică (fig. 23).

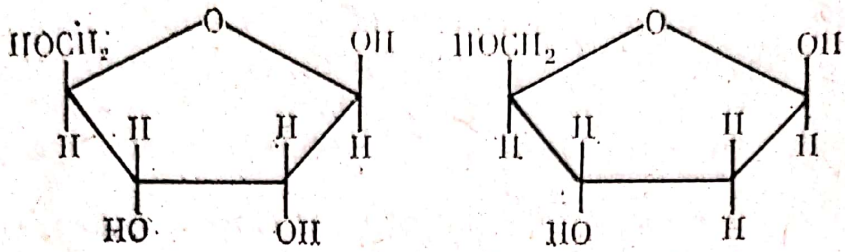
Acidul fosforic din constituția acizilor nucleici este combinat cu pentozele, cu care formează legături de tip esteric. El intră în compoziția nucleotizilor sub formă de mono-,di- sau trifosfat (fig. 24).

Nucleozidele, așa cum am mai amintit, sînt compuși formați din următoarele baze azotate și pentoze : adenozină (adenină + + pentoză), citidină (citozină + pentoză), guanozină (guanină + + pentoză) și timidină (timină + pentoză).

Structura chimică a unui nucleozid este prezentată în figura 25. Nucleozidele intră în constituția acizilor nucleici, reprezentînd fragmente ce se desprind din aceștia în procesul de hidroliză, dar ele există atît în stare liberă, cît și în compoziția unor coenzime. Astfel, adenozina intră în compoziția NAD (nicotinadenindinucleotid), NADP (nicotinadenindinucleotidfosfat), cofosforilazei și coenzimei A, iar uridina (uracil + pentoză) este componentă a coenzimei urodindifosfat-glucoză (UDPG).

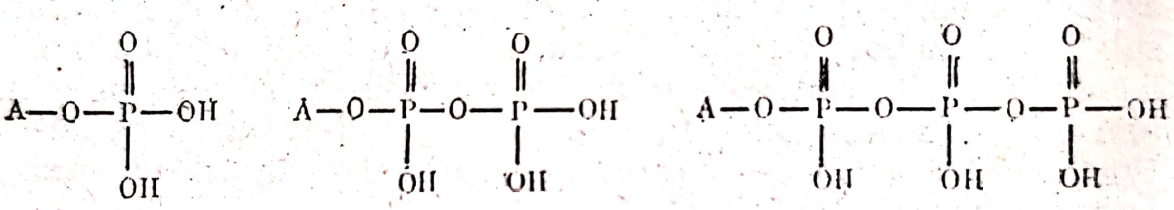
Nucleotizii sînt compuși organici formați dintr-o bază azotată purinică sau purimidinică, o pentoză și una sau mai multe molecule de acid fosforic. Ei pot fi considerați ca esteri ai acidului fosforic cu nucleozidele. Nucleotizii se împart în *ribonucleotizi* și *dezoxiribonucleotizi* după cum în constituția lor intră riboze sau dezoxiriboze. De asemenea ei pot fi pirimidinici sau purinici, în funcție de bazele azotate pe care le conțin. Nucleotizii există fie în stare liberă, fie

Scanned with OKEN Scanner



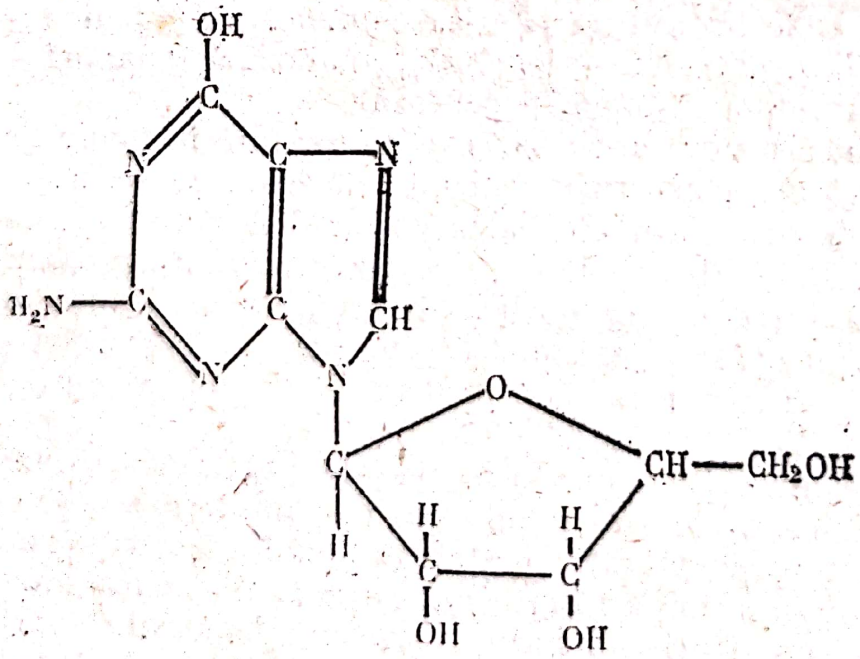
D-Riboză 2-Dezoxi-D- riboză

23. Pentozele care intră în compoziția nucleotizilor și a acizilor nucleici



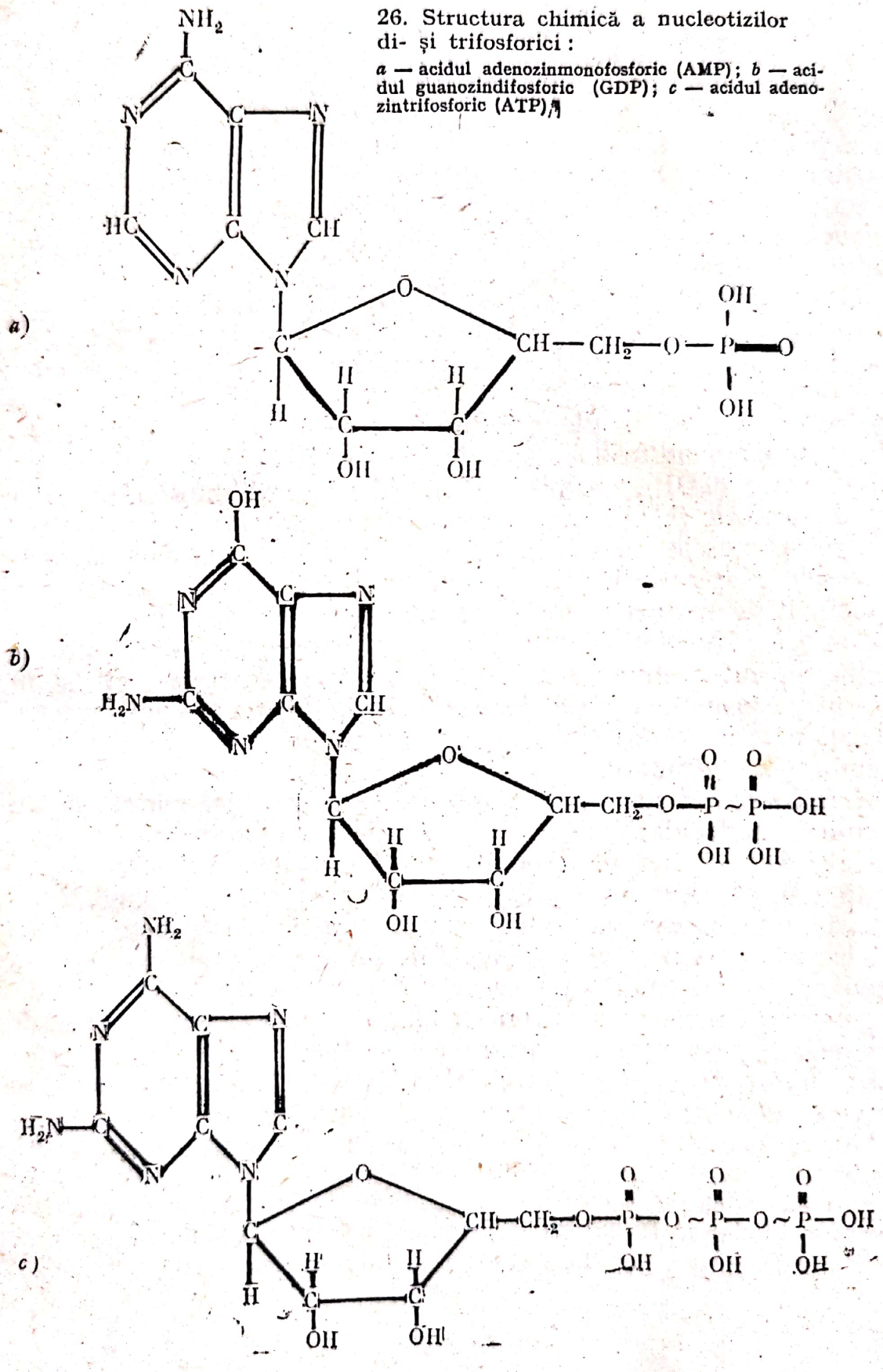
Monofosfat (AMP) Difosfat (ADP) Trifosfat (ATP)

24. Structura mono-, di- și trifosfaților



Guanozina

25. Structura chimică a unui nucleozid (guanozină)



26. Structura chimică a nucleotizilor di- și trifosforici :

a — acidul adenozinmonofosforic (AMP); *b* — acidul guanozindifosforic (GDP); *c* — acidul adenozintrifosforic (ATP).

uniți între ei în cadrul macromoleculelor de acizi nucleici, din care se pot obține prin hidroliză chimică sau enzimatică. Înlănțuirea compușilor din interiorul nucleotizilor (baze azotate, pentoze, acidul fosforic) se face prin legarea acidului fosforic de carbonul 5 al pentozei și a bazei azotate de carbonul 1 al acesteia. După natura bazelor azotate în compoziția ribonucleotizilor distingem acizii adenilic, guanilic, citidilic și uridilic, iar în aceea a dezoxiribonucleotizilor acizii dezoxitimidilic, dezoxiadenilic, dezoxicitidilic și dezoxiguanilic.

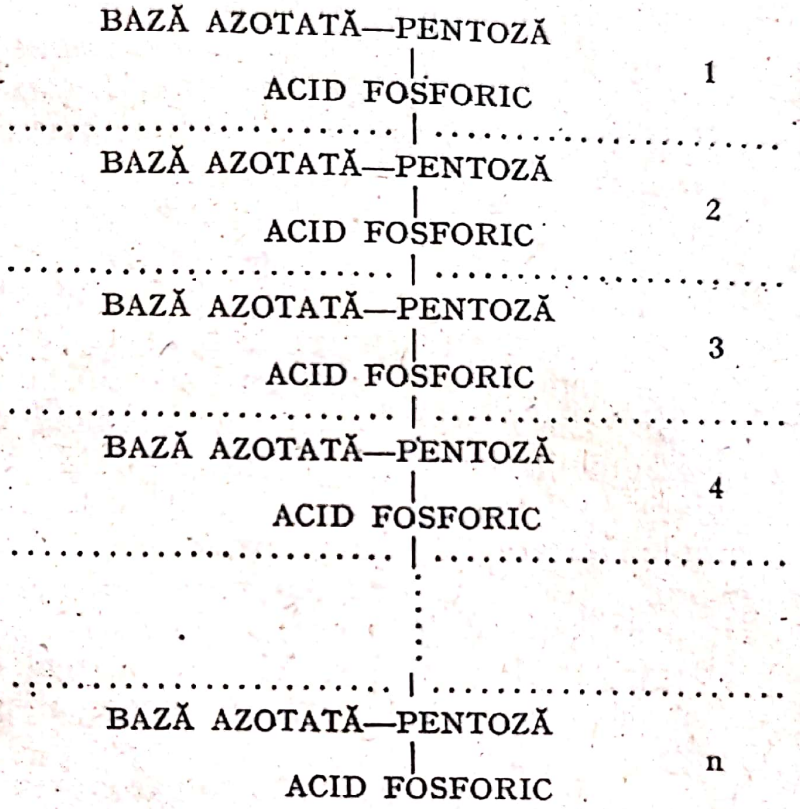
În afară de nucleotizii enumerați mai sus, celulele organismului conțin și nucleotizi care au două sau trei molecule de acid fosforic legate de carbonul terminal al pentozei, numiți nucleotizi pirofosforici. Reprezentanții cei mai importanți ai acestei categorii de nucleotizi sînt acizii adenozindifosforic (ADP), adenozintrifosforic (ATP), guanozindifosforic (GDP), guanozintrifosforic (GTP), citidildifosforic (CDP), citidiltrifosforic (CTP), uridildifosforic (UDP), uridiltrifosforic (UTP). Acești nucleotizi au importanță primordială pentru procesele metabolice ale materiei vii; ei iau parte la procesele respiratorii, fiind acumulatori de energie și donatori principali de resturi fosforice în procesele de fosforosinteză și de fosforoliză. Nucleotizii ocupă o poziție-cheie în multe procese biologice, intervenind atît în metabolismul energetic, cît și în biosinteza proteinelor, a glucidelor, a lipidelor și a acizilor nucleici. Ei iau parte activă în transportul diferitelor substanțe la nivelul membranelor celulare.

Acizii nucleici sînt compuși organici cu structură complexă, cu greutate moleculară mare, reprezentînd polimerii nucleotizilor descriși anterior. Așadar, pentru acizii nucleici, nucleotizii reprezintă unități structurale, ca și aminoacizii pentru proteine. Într-adevăr, numeroase studii au arătat că în molecula acizilor nucleici nucleotizii se repetă de n ori, valorile lui n fiind mult mai mari în cazul acidului dezoxiribonucleic decît în cel al acidului ribonucleic.

Structura moleculei acizilor nucleici comportă două trepte de organizare, și anume: *structura monocatenară* (primară) și *structura bicatenară* (secundară). Prin structură monocatenară se înțelege modalitatea prin care diferiți nucleotizi se unesc între ei pentru a forma un lanț sau o catenă polinucleotidică, iar structura bicatenară se referă la modul în care două catene sau lanțuri polinucleotidice se unesc între ele pentru a forma macromolecula acizilor nucleici. În figura 27 este reprezentat schematic un fragment din structura monocatenară primară a acizilor nucleici.

Scanned with OKEN Scanner

Se observă cu ușurință că scheletul catenei polinucleotidice este format din molecule de acid fosforic și pentoză care alternează cu regularitate, că la fiecare unitate (acid fosforic + pentoză) se asociază o bază azotată, care poate fi purinică sau pirimidinică.



27. Structura monocatenară sau primară a acizilor nucleici: 1, 2, 3, 4,... n = mononucleotizi

Din punctul de vedere al structurii monocatenare, între acidul ribonucleic și dezoxiribonucleic există următoarele deosebiri esențiale: în molecula de ARN pentoza este reprezentată de către riboză, iar în cea de ADN de către dezoxiriboză; uracilul din ARN este înlocuit cu timina din ADN; lungimea catenelor polinucleotidice în ADN este mult mai mare decît în moleculele de ARN. În ceea ce privește succesiunea diferitelor baze azotate de-a lungul lanțului monocatenar s-a demonstrat că aceasta este specifică pentru fiecare acid nucleic în parte.

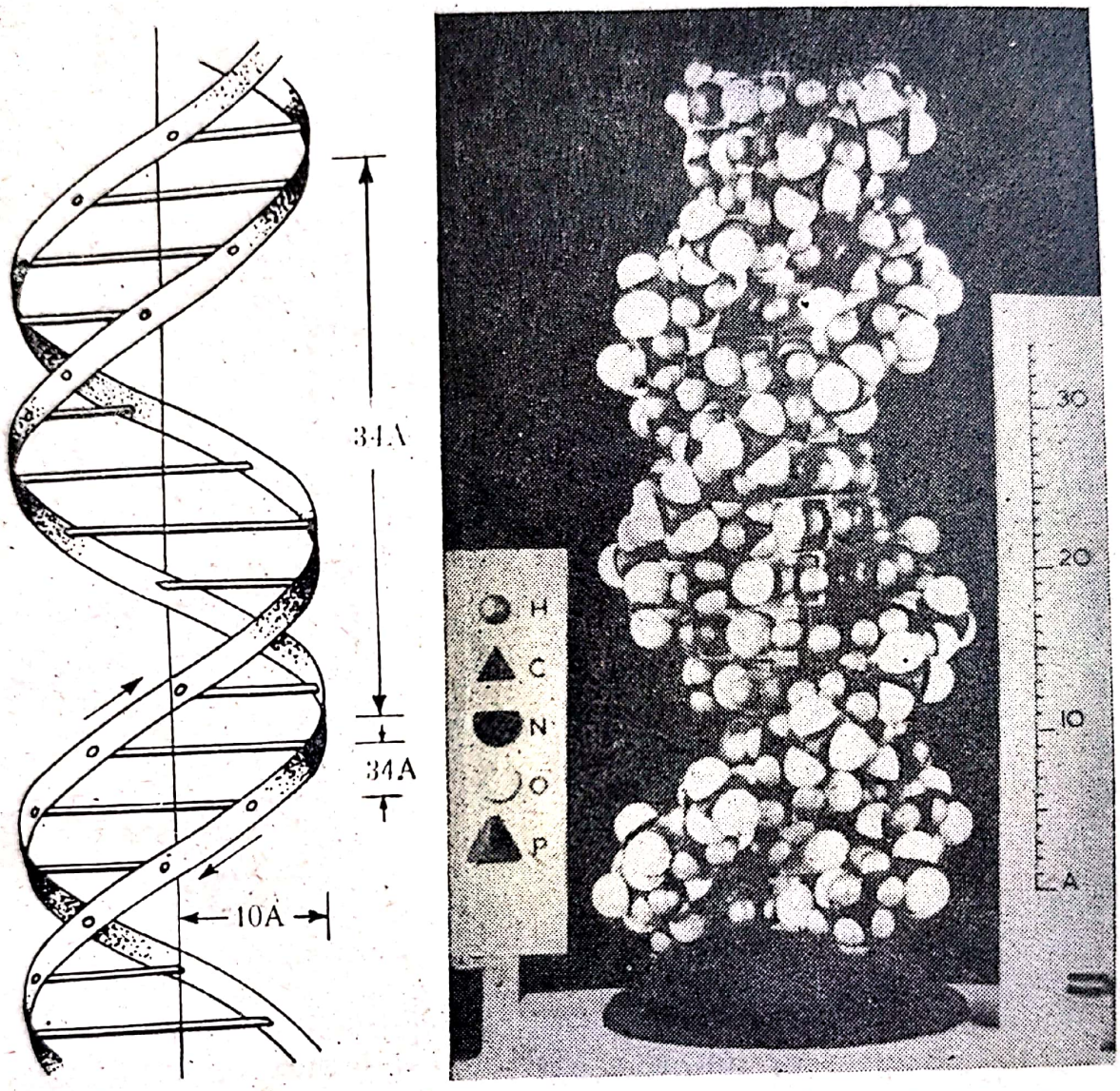
Dacă structura primară sau monocatenară a celor două tipuri de acizi nucleici existenți în natura vie este asemănătoare, structura secundară sau bicatenară diferă foarte mult de la ADN la ARN. În 1953 Watson și Crick au emis ipoteza că această mole-

culă este alcătuită din două catene polinucleotidice, unite între ele prin legături de hidrogen, care se stabilesc între adenina unei catene și timina catenei opuse și între guanina primei catene și citozina catenei complementare. Cele două catene lungi, unite prin legături de hidrogen, se răsucesc elicoidal una în jurul celeilalte, de unde și denumirea de dublu helixul sau duplexul ADN. Cilindrul geometric care încadrează cele două lanțuri ce se răsucesc are diametrul de 20 Å. Ciclurile glucidice, respectiv pentozice, legate prin molecule de acid fosforic, alcătuiesc un schelet extern acestui dublu helix. Pe de altă parte, inelele purinice și pirimidinice, considerate structuri plane, sînt așezate intern și emerg în unghiuri drepte în raport cu axa principală a helixului. Distanța dintre planurile a două perechi adiacente de baze azotate este de 3,4 Å. Pentru o rotație completă în jurul axei acestui helix sînt necesare zece perechi de baze azotate, o rotație completă avînd lungimea de 34 Å. Un fragment de 100 Å lungime din dublu helix are o greutate moleculară de 2 400. Cum adenina (A) și timina (T) sînt baze azotate complementare în ceea ce privește legătura de hidrogen, la fel ca guanina (G) și citidina (C), cele două catene de ADN se numesc și ele complementare, structura uneia fiind copia celeilalte în sensul complementării bazelor. Cele două catene complementare nu sînt asemănătoare din punctul de vedere al nucleotizilor pe care îi conțin.

Moleculele de acid dezoxiribonucleic, a căror greutate moleculară este de ordinul milioanelor, apar astfel ca polimeri superiori ai nucleotizilor. Calcule aproximative arată că molecula de ADN are o greutate moleculară de circa $5 \cdot 10^6$. Moleculele de ADN sînt legate între ele prin mici unități de proteină sau de ioni metalici. O catenă de acid dezoxiribonucleic poate fi compusă din 2 500—15 000 de nucleotizi, de unde rezultă că numărul izomerilor este extrem de mare, fapt care explică de altfel, ca și în cazul acizilor ribonucleici, varietatea și în același timp specificitatea chimică și funcțională a acizilor nucleici. Pînă în prezent au fost izolate două tipuri de ADN, și anume : tipul în care predomină adenina și timina, existent în celulele animale, și tipul în care predomină guanina și citozina, prezent în microorganisme și în unele virusuri.

În apă, grupările Na-fosfat din scheletul pentozo-fosforic al catenelor polinucleotidice din molecula de ADN sînt disociate electrolitic, dînd acestei molecule o sarcină electronegativă mare. Din această cauză, ADN este practic insolubil în apă, dar solubil în soluții saline de o anumită concentrație. Adaosul de sare (NaCl)

Scanned with OKEN Scanner

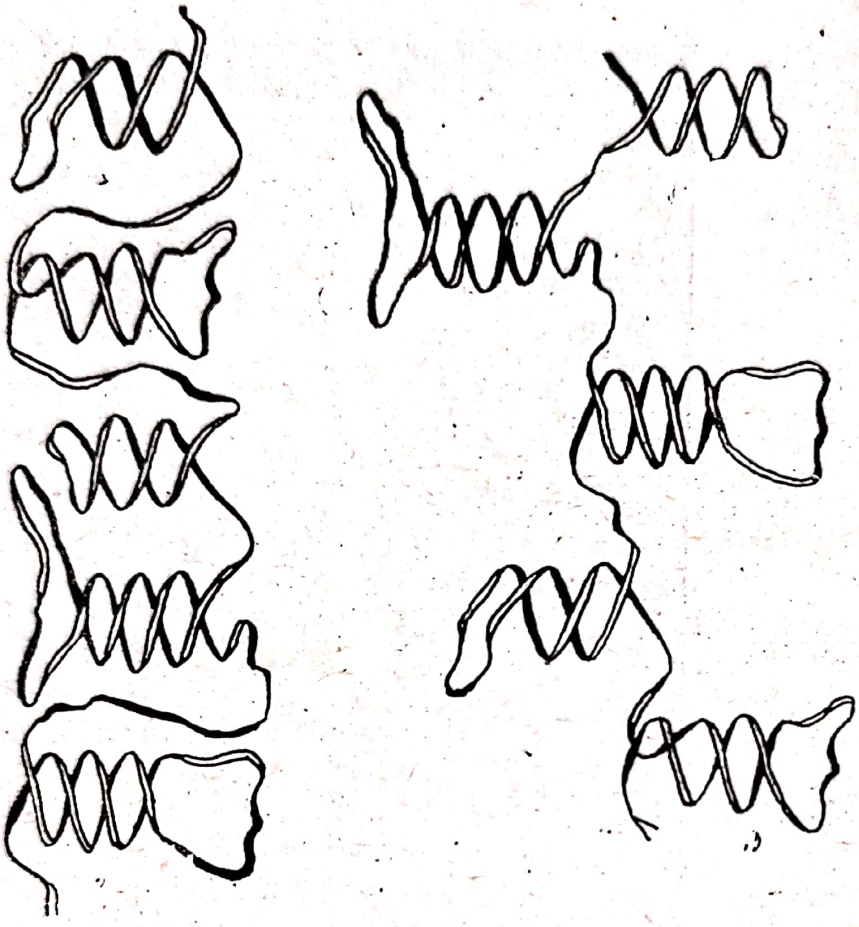


28. Reprezentarea schematică a configurației moleculei de ADN (după Watson și Crick). Se observă legăturile de hidrogen care leagă cele două catene

29. Fragment din molecula de ADN după modelul de structură dublu elicoidală propus de Watson și Crick :
H — hidrogen; C = carbon; N = azot; P = fosfor

produce o saturare rapidă a sarcinilor electrice de ADN și în același timp dispariția interacțiunilor moleculare. Soluțiile de ADN au o viscozitate mare, comportîndu-se ca geluri semicompacte și elastice, cu birefringență de scurgere. În soluții diluate, particulele de acid dezoxiribonucleic se prezintă ca un zigzag format din unde de aproximativ 300 Å. Structura dublu elicoidală este alterată de acizi diluați, alcooli și căldură.

Scanned with OKEN Scanner



30. Structura ARN-ribozomal. Se observă porțiuni catenare răsucite dublu-elicoidal și porțiuni monocatenare (după Spirin, 1963)

Modelul propus de Watson și Crick explică în mare parte proprietatea de autoreproducere a ADN-ului și de transmitere a informației genetice. Așa cum vom vedea mai departe, cele patru baze azotate (adenina, timina, guanina și citozina) formează literele codului genetic (A, T, G, C).

Acidul ribonucleic (ARN) este de trei tipuri, și anume: ARN-ribozomal (ARN-r), ARN-solubil sau de transfer (ARN-s sau ARN-t) și ARN-mesager sau de informație (ARN-m sau ARN-i).

ARN-ribozomal are greutatea moleculară cuprinsă între $5 \cdot 10^5$ și $2 \cdot 10^6$. Se prezintă sub formă de granule, formînd reticulul granular sau ribozomii din citoplasma celulară, de unde și numele de ARN-ribozomal. Se găsește în cantități foarte mari în celule, în citoplasma celulară reprezentînd circa 80—85% din ARN-ul celular. Deși structura ARN-r nu este pe deplin cunoscută, se ad-

Scanned with OKEN Scanner

mite că acest acid este format dintr-o singură catenă, cu legături de hidrogen intracatenare, realizîndu-se astfel structuri bicatenare dublu elicoidale care alternează cu porțiuni monocatenare în buclă, lipsite de legături de hidrogen (fig. 30).

ARN-solubil, sau de transfer, este format numai din 80—100 de nucleotide. El reprezintă 10—15% din ARN-ul celulei și are o greutate moleculară mult mai mică, de circa 30 000. În diferitele structuri celulare (citoplasmă, nucleu, ribozomi, mitocondrii) se află în stare de soluție. Funcția principală a acestui tip de ARN este aceea de a transporta aminoacizii în prealabil activați în timpul procesului de biosinteză proteică. ARN-s pare să conțină în molecula sa cel puțin 20 de molecule diferite, fiecare dintre ele fiind specifică pentru un anumit aminoacid, deși după unii autori ar fi vorba de o eterogenitate a secvențelor nucleotidice. Structura moleculară a ARN-s este dublu elicoidală. După Zubay (1963), molecula de ARN-s ar fi constituită dintr-un lanț polinucleotidic cu aproximativ 67 de unități nucleotidice, care se curbează la mijloc, cele două jumătăți ale lanțului înfășurîndu-se una peste alta. Ambele jumătăți ale lanțului polinucleotidic sînt astfel situate, încît grupările cetoaminice ale bazelor azotate pot forma legături de hidrogen, ca în cazul ADN-ului. Molecula de ARN-s ar avea astfel trei regiuni bine distincte, și anume : regiunea curburii lanțului sau catenei polinucleotidice, formată din trei nucleotizi, fără legături de hidrogen ; regiunea intermediară, care are o structură bicatenară, dublu elicoidală, formată din aproximativ 30 de perechi de nucleotizi, și regiunea terminală. Regiunea de curbură a catenei polinucleotidice are o anumită secvență a bazelor azotate, specifică pentru fiecare aminoacid inclus în molecula proteică.

ARN-mesager, sau de informație, are greutatea moleculară cuprinsă între 100 000 și 200 000 și reprezintă 2—3 % din cantitatea totală de ARN. Succesiunea bazelor purinice și pirimidinice din molecula acestui tip de ARN este complementară față de aceea a unui fir al ARN-ului din aceleași celule, precum și față de cea a tipului de ADN sub influența căruia s-a format. ARN-m are o structură monocatenară. Rolul de bază al acestui tip de ARN este acela de transportor al informației genetice de la moleculele de ADN din cromatină la ribozomi, adică la locul unde se produce biosinteza proteinelor (de aici denumirea de ARN de informație). ARN-m se dezintegrează foarte rapid în cursul activități sale metabolice, durata resintezei lui fiind de ordinul secundelor.

Scanned with OKEN Scanner

Acizii nucleici se întîlnesc în lumea vie de la virusurile cele mai simple la mamiferele cele mai evoluate, avînd un rol de seamă în biosinteza proteinelor și în transmiterea caracterelor ereditare. Substratul material al eredității îl constituie cromozomii, formați din gene, în constituția cărora intră acizi nucleici. Așezarea reciprocă a celor patru feluri de baze azotate în moleculă și proprietățile acestor acizi determină efectele genelor. Biochimia modernă folosește astăzi termenul de alfabet genetic, reprezentat de cele patru baze, care este format numai din patru litere : A,B,C și D. Aceste litere pot fi însă îmbinate într-un număr nelimitat de combinații, ca de pildă : A,C,C,B,D,A,B,C, sau B,C,D,D,A,A,A,C,B etc. Succesiunea acestor litere, sau mai bine zis a bazelor purinice și pirimidinice descrise, determină natura și specificitatea proteinelor care se sintetizează în celulă. Proteinele se compun din 20 de aminoacizi, în același mod în care sînt aranjate bazele azotate în cromozomi. Alfabetul cromozomic hotărăște modul în care se vor dispune, în diferitele proteine, cele 20 de litere ale alfabetului genetic. S-a demonstrat că modificarea unei singure litere din alfabetul genetic poate determina o proprietate ereditară nouă. În afară de cromozomi, care au o importanță primordială, în celulă există și alți factori cu funcții ereditare, și anume citoplasma și structurile subcelulare autoreproducătoare cuprinse în acestea.

În biosinteza proteinelor intervine atît ADN-ul, cît și ARN-ul. Ribozomii, micile particule protoplasmatice din celulă, reprezintă șantierele pe care se desfășoară sinteza proteinelor. Ele primesc informațiile genetice cu privire la ordinea în care urmează să se declanșeze procesul formării proteinelor, adică punerea în poziție a aminoacizilor, apoi combinarea lor și orientarea lanțurilor care se formează prin intermediul unui agent de transmisie, deci a acidului ribonucleic mesager. Acesta pornește din nucleul celulei, de la cromozomi, unde sînt localizate genele, care au drept principal constituent acidul dezoxiribonucleic. Mesagerul transmite tiparului nucleic din ribozomi ordinea precisă, în care, potrivit codului genetic, trebuie orînduiți aminoacizii pentru sinteza proteică.

Proteinele și materia vie

Privită din punct de vedere fizic, materia vie se prezintă ca o substanță moale, plastică, incoloră, translucidă, elastică, coagulabilă prin căldură. Comparată cu apa, ea este vîscoasă, mai refringentă, cu tensiune superficială și greutate specifică mai mari. Ma-

Scanned with OKEN Scanner

teria vie constituie un sistem coloidal eterogen, complex, în care se găsesc soluții moleculare și electrolitice ale unor săruri, glucide simple etc. Mediul de dispersiune îl constituie apa, iar mediul dispersat este format din miceliile coloidale, adevărate agregate de molecule organice sau edificii supramoleculare în care predomină proteinele. Acest sistem coloidal îmbracă fie starea de gel, fie starea de sol, în raport cu diferitele condiții în care se află materia vie și cu acțiunea factorilor de mediu extern cu care aceasta se află în interacțiune. Starea de gel poate trece în stare de sol și invers, în funcție de natura proceselor metabolice și a funcțiilor vitale. Așa, de pildă, mișcările amiboidale care pot fi observate la organismele monocelulare sau procesele de fagocitoză proprii unor celule din organismele vii (leucocitele) sînt strîns legate de starea de sol, iar diviziunea celulară și contractibilitatea depind de fenomenul de gelificare.

Privită din punct de vedere chimic, materia vie reprezintă un complex de substanțe organice și anorganice, unele necaracteristice, altele caracteristice structurilor vii, și anume : apa, sărurile minerale, proteinele, glucidele, lipidele etc. Cantitativ, apa ocupă primul loc dintre componentele chimice anorganice, necaracteristice structurilor vii. Ea reprezintă 98% din masa meduzelor, 84% din cea a melcilor, 81% din masa peștilor, 80% din masa broaștelor și 64% din masa organismului uman adult. Apa este absolut indispensabilă proceselor vitale, întrucît ea formează mediul de dizolvare a substanțelor care intră în constituția materiei vii, permite starea coloidală și disocierea electrolitică, mijlocește transportul diferitelor substanțe, ca și procesele de filtrare, difuziune, osmoză. Sărurile minerale (clorurile, carbonații, bicarbonații, fosfații de sodiu, potasiu, calciu, magneziu etc.) au și ele funcții importante în materia vie. O parte dintre acele săruri fixate pe grăsimile coloidului protoplasmatic contribuie la reglarea viscozității și permeabilitatea membranelor. Altă parte joacă un rol important în procesele de osmoză, difuzie, cataliză, echilibrul acido-bazic și a stării de hidratare. Unele săruri intră în compoziția enzimelor, hormonilor, iar altele participă la procesele de excitație. Dar compușii chimici caracteristici materiei vii (substanțele proprii structurilor vii) sînt combinațiile cu o greutate moleculară mare sau foarte mare pe care le realizează carbonul cu hidrogenul, oxigenul, azotul, sulful și fosforul.

Cele mai simple dintre aceste combinații ale carbonului caracteristice structurilor vii sînt glucidele, în cadrul cărora se deosebesc :

Scanned with OKEN Scanner

monozele sau monozaharidele, care conțin în molecula lor cinci atomi de carbon, denumite și pentoze (riboza și dezoxiriboza), sau șase atomi de carbon, denumite și hexoze (glucoza, fructoza, galactoza), și polizaharidele, formate dintr-un număr mare de monoze (amidonul și celuloza la plante, glicogenul la animale).

Glucidele sînt componenți importanți ai materiei vii, deoarece prin descompunerea lor furnizează energia necesară multor procese vitale. Totodată, unele dintre ele au rol în formarea structurilor scheletice, iar altele intră în constituția unor substanțe protidice sau lipidice.

O altă grupă de compuși ai carbonului caracteristici structurilor vii o formează lipidele, în cadrul cărora se deosebesc : lipidele sau grăsimile simple, formate din unirea acizilor grași cu glicerina (uleiurile vegetale, unele grăsimi animale) ; ceridele, esteri ai unor alcooli monovalenți cu greutate moleculară mare (ceara de albine, spermancetul, lanolina) ; fosfatidele, esteri ai unor alcooli cu acizii grași, care conțin în molecula lor acid fosforic și baze azotate (lecitinele, cefalinele) ; cerebrozidele, înrudite cu fosfatidele, care conțin în molecula lor galactoză în loc de acid fosforic (cerebrona, nevrona, cerazina) ; steridele, esteri ai unor alcooli monovalenți ciclici, numiți steroli, cu acizii grași (colesterolul la animale și ergosterolul la plante). Lipidele, ca și glucidele, servesc ca sursă energetică pentru procesele vitale (rolul lor este însă mult mai complex). Fosfatidele au o mare importanță în formarea structurilor celulare și în multe procese fiziologice, ca, de exemplu, în fenomenele de membrană, iar steridele formează suportul material al vitaminelor din grupul D, al hormonilor sexuali și suprarenalieni (hormonii steroizi).

În sfîrșit cea de-a treia grupă de compuși pe care îi realizează carbonul cu oxigenul, hidrogenul, azotul și sulful, compuși caracteristici materiei vii, sînt proteinele. Despre caracteristicile fizice, chimice și biologice ale acestor substanțe s-a vorbit mai înainte. În cele ce urmează ne vom ocupa de modul în care proteinele participă la organizarea structurii materiei vii. Materia vie îmbracă două forme fundamental deosebite, și anume: forma acelulară și forma celulară. În categoria formelor acelulare deosebim virusurile, organisme submicroscopice, iar în cea a formelor celulare intră toate organismele monocelulare și pluricelulare.

Virusurile, paraziți obligatori la animale și plante, sînt constituite din aceleași substanțe chimice ca și bacteriile, și anume : proteine, acizi nucleici, lipide și hidrați de carbon. Virusurile cele mai simple, ca, de pildă, cele care provoacă poliomielita (paralizia infan-

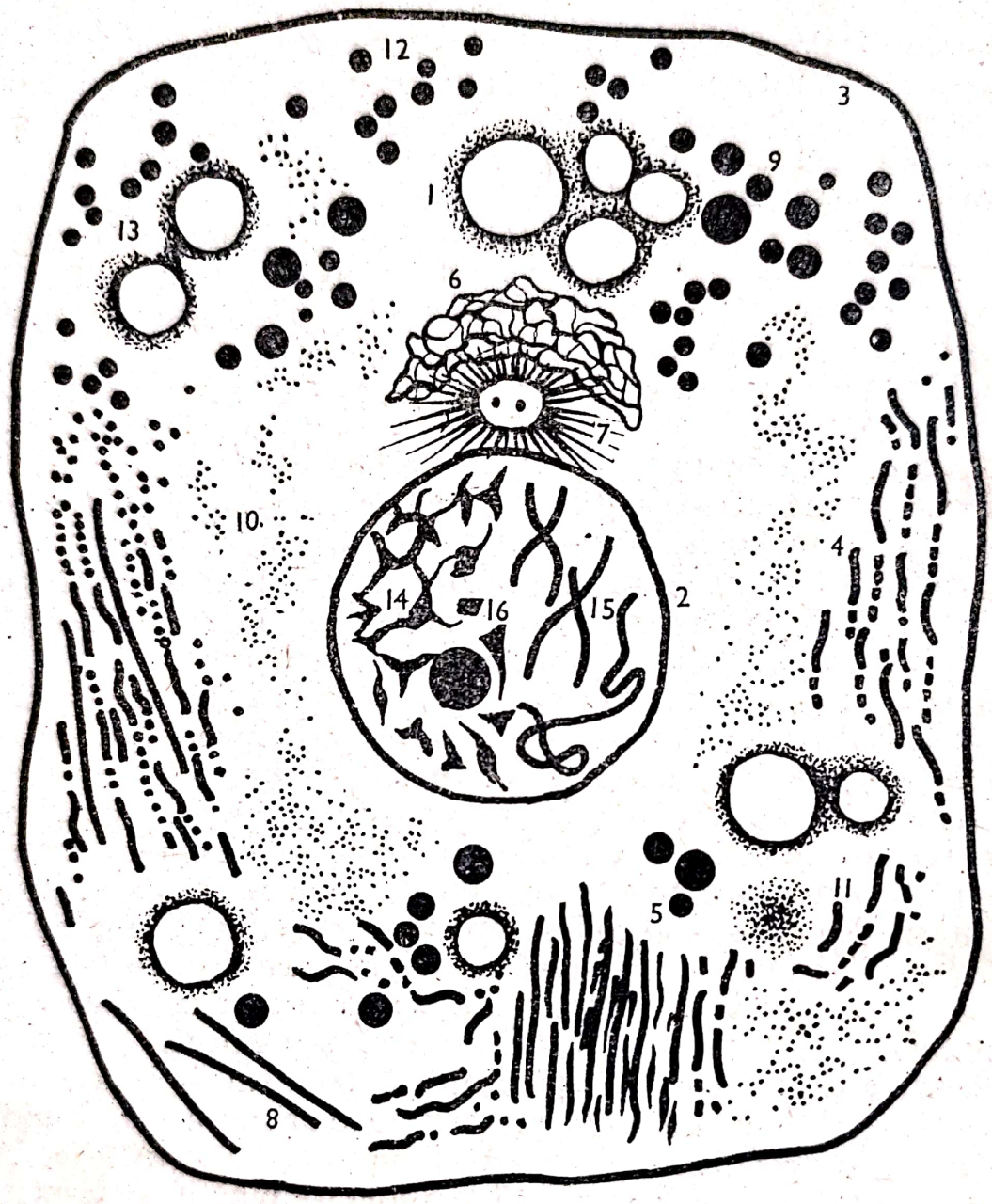
Scanned with OKEN Scanner

tilă), sînt formate doar din acid ribonucleic și o proteină, de unde și denumirea de virusuri nucleoproteinice. Așa-numitele enterovirusuri se compun exclusiv din acid ribonucleic (26%) și proteină (74%). Izolate în stare chimic pură, aceste virusuri cristalizează sub formă de prisme tetragonale. Alte virusuri mai mari conțin în structura lor, în afară de acizi nucleici și proteine, lipide și hidrați de carbon. Astfel, virusul gripal este constituit dintr-un miez sau centru de natură nucleoproteinică, cu 1% ARN drept constituent principal, și o zonă periferică, formată din 60—70% proteine, 25% lipide și 5—7% hidrați de carbon. Virusul vaccinal, care face parte din categoria virusurilor mari, conține 89% proteine, ADN și lipide (fosfolipide și grăsimi neutre), hidrați de carbon și cupru.

Din cele de mai sus rezultă că proteinele, respectiv nucleoproteinele, sînt componenții principali ai virusurilor. Fiecare substanță care intră în constituția virusurilor reprezintă suportul material al anumitor proprietăți sau funcții care, în ansamblul lor, determină caracteristicile unei anumite specii de virus. Astfel, în ultimii zece ani s-a putut demonstra că acidul nucleic virotic, lipsit de învelișul proteic, poate manifesta proprietăți infecțioase (introdus în celula-gazdă receptivă determină producerea de noi virusuri). Așadar, acizii nucleici sînt depozitarii informației genetice, informație care se manifestă prin dirijarea metabolismului celulei-gazdă spre biosinteza unui nou acid nucleic viral asemănător. Învelișul extern proteic sau glicolicoproteic are și el funcții multiple: protejează substanța genetică, adică acidul nucleic, care în stare liberă este foarte fragil; mijlocește absorbția sau fixarea viruslui pe anumite substanțe specifice (receptori) prezente în structura membranelor celulelor-gazdă; participă la procesul de pătrundere a virsului în celula-gazdă; conferă virusului o anumită specificitate imunobiologică, condiționînd reacțiile imunitare atît *in vivo*, cît și *in vitro*. Așadar, virusurile pot fi considerate pînă în prezent ca cele mai simple forme vii care manifestă unele însușiri fundamentale ale vieții. Ceea ce caracterizează nivelul acelular de organizare a materiei vii este strînsa legătură dintre doi componenți principali indispensabili oricărei manifestări vitale, și anume proteina și acidul nucleic.

În decursul evoluției sale, materia vie s-a structurat sub formă celulară. Celula reprezintă unitatea elementară și în același timp fundamentală a materiei vii; ea conține toate componentele necesare desfășurării proceselor metabolice care constituie în ansamblu esența vieții. Toate organismele vii, cu excepția celor care se găsesc

Scanned with OKEN Scanner



31. Reprezentarea schematică a structurii celulei:
1 — citoplasmă; *2* — nucleu; *3* — membrană; *4* — condriozomi; *5* — ergastoplasmă; *6* — aparat Golgi; *7* — centru celular; *8* — diferenţieri celulare fibrilare; *9* — lipide; *10* — glicogen; *11* — pigmenţi; *12* — granule de secreţie; *13* — vacuole; *14* — cromatină; *15* — cromozomi; *16* — nucleol

sub treapta celulară de organizare a materiei vii, sînt alcătuite din celule. La organismele superioare, acestea sînt specializate şi diferenţiate din punct de vedere funcţional. Ansamblul celular de acelaşi tip formează diferitele ţesuturi, care, la rîndul lor, alcătuiesc organe, sisteme şi, în ultimă instanţă, organismul ca atare.

Scanned with OKEN Scanner

Deși există o multitudine de tipuri celulare, diferite întrucîtva ca structură și compoziție chimică, acestea sînt, în general, alcătuite din nucleu, citoplasmă și membrană.

Nucleul este o formațiune care s-a diferențiat ceva mai tîrziu în cursul evoluției istorice a materiei vii. Mărturie sînt organismele inferioare, ca, de pildă, virusurile, bacteriile și algele albastre, care nu au un nucleu bine individualizat. Deși acestea conțin un material nuclear format din acid dezoxiribonucleic, totuși acesta se deosebește de nucleul propriu-zis al celorlalte viețuitoare prin faptul că nu este separat de citoplasma ambiantă printr-o membrană nucleară.

Nucleul celular este format din membrana nucleară, nucleolul și sucul nuclear, în care se găsește cromatina. Structura nucleului este foarte diferită, după cum celula se află în perioada de diviziune sau în repaus. În perioada de diviziune, nucleul este înfășurat (cu excepția bacteriilor) într-o membrană dublă, prevăzută cu numeroși pori, dispuși regulat și închiși printr-un diafragm foarte fin sau prin alte substanțe. Membrana nucleară dispare complet în timpul diviziunii celulare și se reface în jurul fiecărui nucleu al celulelor-fiice. Nucleul celulelor aflate în repaus se prezintă de obicei omogen, cu o structură foarte fin și uniform granulară, decelabilă numai cu ajutorul microscopului electronic. În mod normal, singura structură intranucleară vizibilă la microscopul optic este nucleolul, formație densă care la microscopul electronic pare a fi formată dintr-un reticul ce conține niște granule coaglutinate.

În timpul diviziunii celulare, nucleolul devine mai mic. Apar apoi cromozomii, care, după ce se îngroașă, capătă aspectul binecunoscut din timpul diviziunii mitotice și meiotice. De asemenea, în cursul diviziunii celulare, spațiul în care inițial se găsea nucleul este ocupat de o formație cunoscută sub numele de fus, alcătuită din filamente proteice la care se atașează cromozomii și pe care aceștia migrează către cei doi poli. Cromozomii au o structură internă foarte fină, fiind alcătuiți dintr-un anumit număr de gene, dispuse într-o ordine bine determinată.

Structura chimică a nucleului celular este predominant proteică. Nucleolul este bogat în acid ribonucleic, iar filamentele cromatice conțin mult acid dezoxiribonucleic, asociat cu histone și protamine. În nucleul celular se găsesc cantități mici de ARN. Sucul nuclear în care plutesc nucleele și filamentele cromatice este constituit din proteinele bazice amintite mai sus, precum și dintr-o proteină cu caracter acid, cromozomina, bogată în triptofan. În mo-

Scanned with OKEN Scanner

mentul diviziunii celulare, filamentele cromatice, adică materialul nestructurat al nucleului, se agregă, formînd cromatina, din care se individualizează apoi cromozomii. Cromozomii sînt constituiți din ADN, în care este înscrisă informația genetică. Nucleul celular conține și alte componente proteice, ca, de exemplu, unele enzime (arginaza, fosfataza alcalină).

Citoplasma este o substanță eterogenă complexă, formată din hialoplasmă și morfoplasmă. Hialoplasma reprezintă protoplasma fundamentală a celulei. Ea apare la microscopul obișnuit ca o masă amorfă, fără structură, transparentă și omogenă, în masa căreia se găsesc o serie de formații diferențiate, care, în totalitate, formează așa-numita morfoplasmă.

Hialoplasma este constituită dintr-un citoschelet format din macromolecule filamentoase așezate în toate direcțiile care se încrucișează în fel și chip. Aceste macromolecule nu sînt independente, ci între lanțurile lor laterale, la punctele de încrucișare, există legături de ordin chimic, rezultînd astfel un fel de reticul.

Proteinele joacă rolul primordial în organizarea structurală a materiei vii, atît în ceea ce privește hialoplasma, cît și morfoplasma. După unii autori, în hialoplasmă, care poate fi considerată ca gel hidratat, faza dispersată ar fi formată dintr-o rețea de molecule proteice în lanț deschis, cu aspect filiform, care, întretăindu-se între ele, realizează citoscheletul amintit mai sus. În ochiurile acestei rețele se găsește mediul de dispersie, format din apă și din alte substanțe. Catenele libere ale lanțurilor polipeptidice care alcătuiesc scheletul celular controlează repartizarea celorlalți constituenți ai celulei, coordonînd astfel toate reacțiile metabolice din organismele vii.

Grupările atomice ale lanțurilor laterale ale moleculelor proteice, împreună cu ceilalți constituenți ai materiei vii (acizii nucleici, lipidele, glucidele) formează nucleoproteinele, lipoproteinele și glicoproteinele, care constituie edificiul supramolecular al materiei vii. Acest edificiu realizează combinații labile cu ceilalți constituenți ai materiei vii. În ultima vreme, autorii ipotezei de mai sus (Frey-Wyssling) consideră că formațiile filamentoase spiralate ale rețelei care formează scheletul celular nu sînt macromolecule proteice în lanț deschis (lanțuri polipeptidice), ci macromolecule proteice globulare dispuse în șiraguri liniare care alcătuiesc miceliile coloidale. Punctele de legătură care se stabilesc între elementele globulare ale filamentelor se pot rupe și reface în raport cu diferitele condiții fizico-chimice sau biologice, ceea ce conferă structurii submicros-

Scanned with OKEN Scanner

copice a citoplasmei celulare o stare de echilibru dinamic. Din interacțiunea dintre substanțele din mediul dispersat și cele ale mediului de dispersare și din relațiile lor cu mediul înconjurător rezultă diversele forme și funcții ale materiei vii.

Morfoplasma, cea de-a doua parte componentă a citoplasmei, este constituită din diferite structuri subcelulare, particule bine diferențiate care dețin un rol important în metabolismul celular. Dintre aceste particule menționăm mitocondriile, ribozomii, lizozomii, cloroplastele și centrozomii, formații numite și organite celulare. Aceste particule subcelulare sînt componente structurale vii, aflate într-o stare fizică deosebită de restul citoplasmei și capabile de autoreproducere. În afară de aceste organite celulare, citoplasma mai conține și alte structuri subcelulare, determinate de funcția specifică a unor anumite categorii de celule, cum sînt : miofibrilele din mușchi, neurofibrilele din sistemul nervos, fibrele din țesuturile conjunctive, granulele bazale ale cililor și flagelilor etc. De asemenea, în citoplasmă se mai găsesc și incluziuni sau particule moarte, care nu sînt altceva decît substanțe de rezervă, ca, de pildă, glicogenul, amidonul, lipidele, granulele de mucus, pigmenții etc. Desigur, aceste structuri nu sînt prezente în toate celulele din natura vie. Dintre structurile amintite, mitocondriile din celulele animale și cloroplastele din celulele vegetale au cea mai mare importanță biologică, întrucît la nivelul lor se desfășoară cele mai multe procese metabolice care stau la baza vieții.

O mitocondrie tipică este o formație subcelulară alungită, cu lungimea de circa 500 mμ, înfășurată într-o membrană dublă. În interiorul ei se găsesc niște formații lamelare sau tubulare, purtătoare de particule mici și dense cu diametrul de 10—15 mμ. În fig. 32 este reprezentată schematic structura tridimensională a mitocondriei pe baza datelor de microscopie electronică. Mitocondriile sînt incluse în cutele formate prin înfășurarea membranelor reticulului endoplasmic. Membrana externă a mitocondriei este formată din două foițe, care au împreună o grosime de 150 Å. În interiorul mitocondriei se află membranele numite și criste sau septe, care sînt de natură lipoproteică și conțin circa 30% lipide, peste 50% proteine structurale (nu participă la procesele oxidoreducătoare) la care se adaugă protein-enzimele.

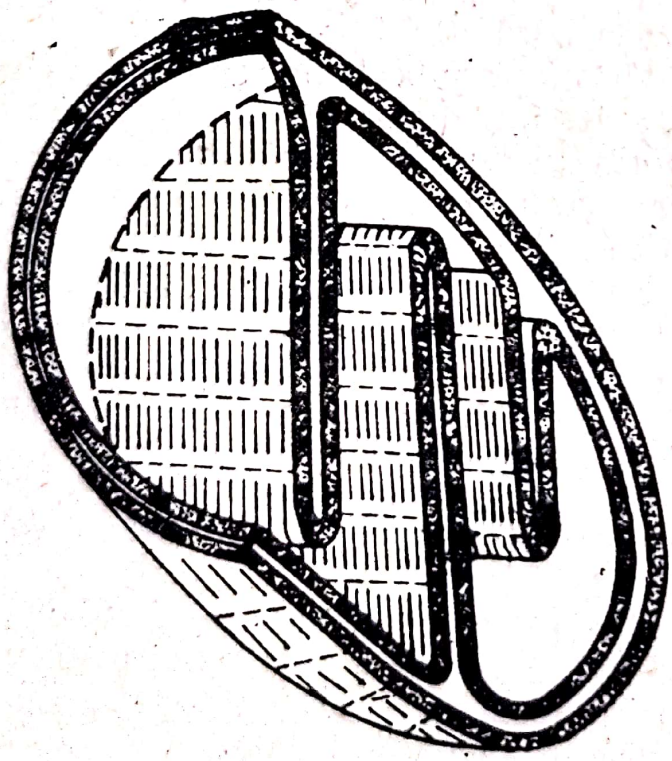
Mitocondriile concentrează în masa lor o mare cantitate de enzime (aproximativ 200); acestea catalizează cele mai importante reacții biochimice ale metabolismului. În aceste formații subcelulare se desfășoară metabolismul energetic celular.

Scanned with OKEN Scanner

Reticulul endoplasmic sau ergastoplasma este o formație subcelulară, alcătuită din mai multe membrane, aranjate într-un sistem de canalicule care ating nucleul și înconjură mitocondriile. Membranele reticulare, bogate în proteine și lipide, conțin un număr considerabil de enzime oxidoreductoare.

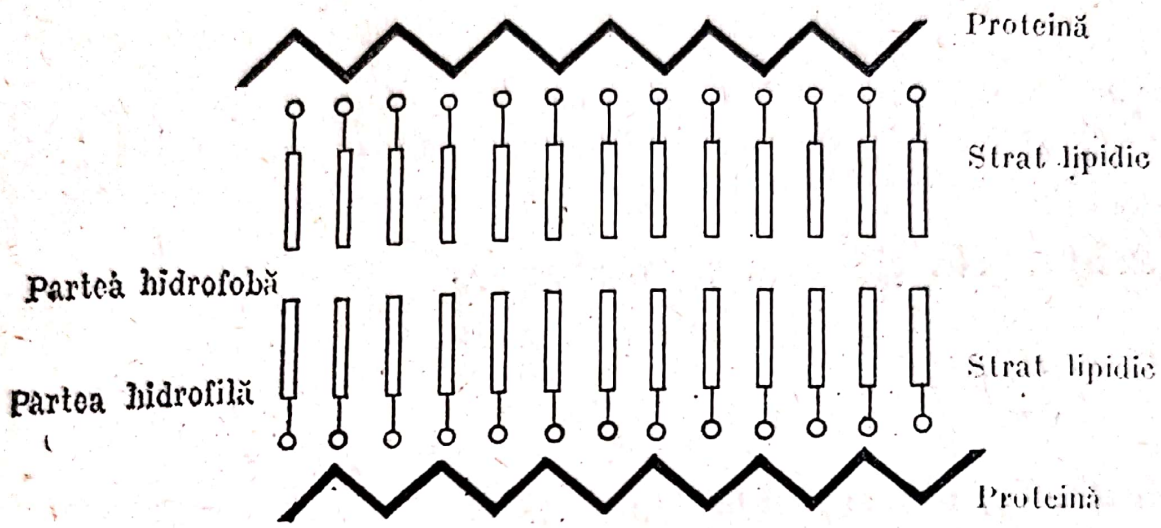
Ribozomii, particule de formă relativ sferică, au diametrul de 150—350 Å. Ei sînt constituiți din nucleoproteine, conținînd circa 63% acid ribonucleic (ARN) și 37% proteine cu caracter bazic. Fiecare ribozom este format din două particule inegale ca volum și greutate, separabile prin ultracentrifugare. Aceste particule se compun în principal din acizi ribonucleici, combinați cu proteine bazice. Particulele mici conțin acid ribonucleic cu moleculă mică (greutate moleculară în jur de 500 000), iar particulele mari acid ribonucleic cu moleculă mare (greutate moleculară în jur de 1 500 000). Așa cum vom vedea mai departe, ribozomii participă la biosinteza proteinelor în etapa de încorporare a aminoacizilor în proteinele ribozomale.

Lizozomii sînt particule subcelulare care au fost puse în evidență prin ultracentrifugarea diferențiată a omogenatelor de celule. Aceste formațiuni asemănătoare unor săculețe sînt înconjurate de o membrană lipoproteică și cuprind, în stare latentă, un număr



32. Reprezentarea schematică a unei mitocondrii (după Pallade)

Scanned with OKEN Scanner



33. Participarea proteinelor la structura membranelor celulare

important de enzime hidrolitice. Membrana lizozomică separă enzimele din interior de restul citoplasmei și prin aceasta împiedică acțiunea hidrolitică și deci distructivă a acestor enzime asupra citoplasmei și a celorlalte structuri celulare și subcelulare. Într-adevăr, atunci cînd membrana lizozomică este ruptă sau cînd permeabilitatea sa este crescută enzimele sînt deversate în citoplasmă unde pot ataca fie constituenții chimici ai unui corp străin (bacterii, virusuri etc.), fie pe aceia ai celulei însăși. Lizozomii joacă un rol biochimic important în procesul fagocitozei, al autolizei fiziologice și patologice, al fenomenelor inflamatorii.

Membrana celulară, observată de curînd la microscopul electronic, este formată din două straturi proteice, despărțite printr-un strat lipidic (fig. 33). La bacterii, de pildă, celula este înfășurată într-o membrană formată din lipoproteine, lipopolizaharide și mucopolizaharide. Pe lîngă lipide și proteine, membrana mai conține și cationi. Prin grupările lor terminale negative, lipidele și proteidele intră în interacțiune cu cationii.

În concluzie se poate spune că proteinele dețin principalul rol în organizarea acelulară și celulară a substanței vii.

2

Proteinele și cataliza biologică

Enzimele, proteine biocatalizatoare

Viața este posibilă numai dacă între organismul viu și mediul înconjurător există un schimb continuu de substanțe; din mediul exterior pătrund în organism substanțe capabile să asigure desfășurarea normală a proceselor vitale, iar din organism se elimină în mediul exterior substanțele de excreție. În momentul în care acest schimb încetează, organismul moare. Schimbul neîntrerupt dintre organism și mediul înconjurător comportă, în ansamblu, trei etape principale, și anume : încorporarea de către materia vie a substanțelor nutritive din mediul exterior; transformările chimice și energetice intracelulare ale substanțelor nutritive încorporate; excreția sau depozitarea produselor finale ale metabolismului. Transformările pe care le suferă substanțele nutritive de la încorporarea lor în materia vie și pînă la eliminarea resturilor în mediul înconjurător comportă un număr foarte mare de reacții chimice strict ordonate și strîns legate între ele, care, deși posibile din punct de vedere termodinamic, nu ar putea să se desfășoare fără intervenția catalizatorilor biologici.

Biocatalizatorii sînt compuși organici care au rolul de a regla reacțiile chimice din organismele vii. Caracteristicile esențiale ale acestor substanțe constau, pe de o parte, în indispensabilitatea lor absolută pentru viață (viața nu poate exista fără biocatalizatori), iar pe de altă parte în faptul că nu participă la formarea structurilor și nici nu constituie material energetic primar (nu au nici rol plastic, nici energetic). În grupa substanțelor organice cu rol de catalizatori biologici intră vitaminele, hormonii și enzimele. Împărțirea aceasta mai veche nu implică în mod necesar existența

Scanned with OKEN Scanner

unor bariere absolute între cele trei categorii de substanțe. Astfel s-a putut demonstra că între vitamine și hormoni există relații funcționale, acțiuni sinergice sau acțiuni antagoniste. Așa cum vom vedea mai departe, multe vitamine intră în structura enzimelor, constituind cofactorii sau grupările prostetice ale acestora.

Proteinele dețin un rol esențial în cataliza biologică, deoarece numai o mică parte din substanțele biocatalizatoare nu sînt de natură proteică (vitaminele și hormonii neproteici). Dar nu toate proteinele manifestă însă proprietăți catalitice, ci numai cele cunoscute sub numele de enzime sau de fermenți. În condiții normale, enzimele fac posibilă prin acțiunea lor catalitică desfășurarea unui mare număr de reacții chimice, care, în afara organismului, nu ar putea avea loc decît în condiții incompatibile cu viața. Așa, de exemplu, descompunerea proteinelor în eprubetă la temperatura de 37°C se face într-un mediu puternic acid, impropriu vieții și durează peste trei luni. De asemenea, pentru a realiza descompunerea proteinelor în eprubetă într-un timp scurt, așa cum se întîmplă în organismul viu, sînt necesare condiții de temperatură, presiune și aciditate incompatibile cu viața organismelor. Introdusă în stomac, aceeași proteină este descompusă în aminoacizi într-un ritm foarte rapid, în condiții de temperatură, presiune și aciditate existente în organism. Astfel, un gram de pepsină cristalină (enzimă proteolitică secretată de mucoasa stomacului) poate să descompună în două ore 60 de kg de albuș de ou denaturat. Același lucru se întîmplă și cu celelalte substanțe nutritive complexe, adică cu amidonul și cu grăsimile, care în tubul digestiv al organismelor vii sînt descompuse cu o viteză foarte mare.

Aproape toate procesele chimice care stau la baza vieții sînt catalizate de enzime. Ca atare se poate afirma că viața nu poate exista fără enzime. Cu acest prilej subliniem din nou însemnătatea proteinelor ca bază a vieții, ca substanță fără care nu se pot concepe procesele de transformare a substanțelor ingerate în substanțe proprii și nici unitatea dintre organism și mediu.

Pentru a înțelege intimitatea multiplelor și complexelor reacții chimice care stau la baza vieții, precum și legătura indisolubilă dintre metabolism și oricare dintre fenomenele vitale începînd cu autoreproducerea organismelor vii și sfîrșind cu procesul gîndirii, vom prezenta principalele caracteristici și modul în care aceste proteine cu proprietăți catalitice intervin în reacțiile biochimice.

Enzimele sînt proteine care manifestă proprietatea fundamentală de a cataliza reacțiile biochimice ce se petrec în natura vie, de a acce-

lera mersul reacțiilor implicate în diferite procese metabolice, făcînd astfel posibilă manifestarea funcțiilor de bază ale materiei vii. În organismele vii, enzimele se găsesc atît în nucleu, citoplasmă, cît și în toate lichidele biologice. Pînă în prezent se cunosc aproximativ 700 de enzime, dintre care peste o sută au fost purificate și cristalizate.

Enzimele sînt substanțe macromoleculare cu *greutate moleculară* mare, greutate care variază în limite foarte largi, de la 12 000 (ribonucleoza) pînă la 1 000 000 (glutamicdehidrogenaza). Cele mai mici molecule de enzime care manifestă activitate catalitică au greutatea moleculară peste 10 000.

Structura enzimelor este aceeași cu a proteinelor, cu deosebirea că în macromolecula acestora există anumite grupări chimice responsabile de activitatea catalitică. O parte din enzime au molecula formată dintr-un singur lanț peptidic, ca, de exemplu, pepsina, tripsina, papaina, carboxipeptidaza, lizozimul, amilaza pancreatică și ribonucleaza. Molecula altor enzime este formată din două lanțuri peptidice ca, de exemplu, cea a α-chemotripsinei, a aldolazei izolate din mușchiul de iepure etc. În sfîrșit alte enzime sînt formate din mai multe lanțuri polipeptidice. *Compoziția în aminoacizi* a diferitelor enzime reproduce întocmai compoziția în aminoacizi a proteinelor. Așadar, din acest punct de vedere, între proteinele care nu au activitate catalitică și enzime nu există deosebiri prea mari, de unde se poate trage concluzia că activitatea enzimatică nu se datorește unei anumite compoziții în aminoacizi a enzimelor, ci altor factori.

Ordinea în care sînt așezați aminoacizii în catenele polipeptidice ale macromoleculelor enzimelor a fost studiată în special pe enzime cu greutate moleculară mică, ca, de exemplu, ribonucleaza (12 000), lizozimul (17 000) și chimotripsina (22 000). În figura 34 este prezentată ordinea în care se succedă aminoacizii în molecula ribonucleazei.

Cercetările biochimice au arătat că cele mai multe enzime sînt proteine globulare, avînd deci molecula aproape sferică sau elipsoidală. În capitolul I au fost prezentați factorii care contribuie la plierea, torsionarea și înfășurarea lanțurilor polipeptidice, adică factorii responsabili de macrostructura moleculei proteice. Dar dacă molecula enzimelor este în linii mari asemănătoare ca structură și compoziție chimică cu a altor proteine, ea diferă totuși de acestea prin așa-numitul *centru activ* sau catalitic, adică prin acea parte din macromolecula enzimei care se combină cu substratul pe care-l

Scanned with OKEN Scanner

catalizează și care este responsabil de proprietățile catalitice ale enzimei. Centrul activ determină, pe de o parte, specificitatea de substrat, iar pe de altă parte specificitatea de reacție. El constă din totalitatea grupărilor chimice active din molecula protein-enzimei care se combină specific cu molecula substratului. Centrul activ conține anumiți aminoacizi, ca, de exemplu, histidină (ribonucleaza), serină (colinesterază, chimotripsină, tripsină, fosfoglucomutază), precum și anumite grupări active, ca, de exemplu, gruparea SH. Activitatea catalitică a enzimei este aproape în exclusivitate legată de prezența centrului activ și de structura altor părți ale enzimei, limitrofe centrului activ. Într-adevăr, s-a constatat că, îndepărtînd din molecula pepsinei 120 de aminoacizi din cei 180 cîți conține molecula, activitatea enzimatică rămîne aproape neschimbată (99%). De asemenea, din molecula ribonucleazei se pot îndepărta o parte din aminoacizi, fără ca activitatea enzimatică să scadă în mod sensibil. Atît centrul activ, cît și grupările active diferă de la o enzimă la alta. În cazul enzimelor alcătuite din mai multe lanțuri, centrul activ se găsește în toate lanțurile care formează macromolecula proteică, ocupînd o poziție transversală.

Multe enzime din natura vie manifestă activitate catalitică numai în prezența altor substanțe, cunoscute sub numele generic de *cofactori*. Acestea sînt substanțe anorganice sau organice cu o structură simplă sau complexă, a căror prezență este indispensabilă pentru producerea unor reacții enzimatice. Majoritatea cofactorilor pot fi încadrați în două mari clase, și anume : *coenzimele specifice*, substanțe organice complexe, și așa-numiții *activatori*, care sînt de obicei substanțe simple, ca, de pildă, ionii anorganici. Ca și enzima propriu-zisă, cofactorii acționează în cantități foarte mici.

Coenzimele specifice sînt compuși organici care, în prezența enzimelor specifice, sînt capabili să transfere grupările chimice, în mod reversibil sau nereversibil de la un substrat la altul. Formula generală prin care se poate exprima intervenția coenzimelor într-o reacție enzimatică este următoarea :

$$S + CoX \overset{E_1}{\rightleftharpoons} SX + Co,$$

în care S este substratul, X gruparea chimică supusă transferului și Co coenzima. Coenzima poate apărea sub două forme, și anume

Scanned with OKEN Scanner

ca acceptor și ca donator de grupări chimice. Astfel, reacția de mai sus se poate cupla cu o altă reacție enzimatică, în care coenzima acționează după formula :

$$TX + Co \overset{E_2}{\rightleftharpoons} T + CoX,$$

în care TX este substratul de pe care coenzima (Co) poate să accepte gruparea chimică notată cu X. Coenzima este apoi regenerată în forma în care poate intra din nou în reacție. În unele reacții sau secvențe de reacții, coenzima nu acționează sub ambele forme, adică de acceptor și donator, ci numai ca intermediar în transformarea substratului.

Dintre coenzimele specifice, cele mai bine cunoscute sînt nicotinamidnucleotidcoenzimele (NAD, NADP), acidul lipoic, glutationul, citocromii, transportorii de grupări fosfatice (ATP, ADP), transportorii grupărilor acrilice (CoA), uridin-difosfat-glucoza (UDG), acizii folici și coenzima Q sau ubichinona (UQ).

Nicotinamidadenindinucleotidcoenzimele sînt foarte răspîndite în natura vie. Ele acționează ca acceptori și donatori de hidrogen, jucînd un rol-cheie în procesele de oxidoreducere. Reducerea sau acceptarea ionilor de hidrogen de pe substrat se face la nivelul ciclului nicotinamidic din structura acestor coenzime. În celule și țesuturi se produce un mare număr de reacții chimice, la care participă aceste coenzime.

Acidul lipoic intervine în fotosinteză ca transportor de hidrogen și în metabolismul acidului piruvic și al altor substanțe ca transportor de grupare acetil. Glutationul este un tripeptid format din cisteină, acid glutamic și glicocol. Ca și acidul lipoic, el intervine în sistemele oxidoreductoare datorită prezenței grupărilor SH. Citocromii sînt proteine intercelulare combinate cu anumite tipuri de porfirine oxidate sau reduse. Acești compuși intervin în procesele de oxidoreducere și în respirația tisulară.

Acizii adenozindifosforic și adenozintrifosforic acționează ca donatori sau acceptori de grupare fosfatică (fosfați). Enzimele care catalizează reacțiile de transfer al grupării fosfatice poartă numele generic de fosfochinaze. Coenzima A este un compus organic care conține în structura sa gruparea tiolică SH, de care este legată activitatea funcțională a acesteia. În prezența unor enzime numite sintetaze și a acidului adenozintrifosforic, coenzima A, prin intermediul grupării — SH, se poate combina cu acidul acetic, acizii

Scanned with OKEN Scanner

grași și alte substanțe, formînd derivați corespunzători și invers. Coenzima A ia parte la sinteza acidului citric, intrînd în ciclul acizilor tricarboxilici. De asemenea participă la sinteza compușilor sterolici, la reacțiile care stau la baza sintezei și degradării acizilor grași, precum și la alte reacții. Coenzimele Q sînt compuși derivați ai benzochinonei care manifestă proprietăți oxidoreductoare. Ele sînt liposolubile și se găsesc în mitocondrii. Intervin în procesul respirației celulare, participînd alături de citocromi la transportul electronilor. În prezența unor enzime specifice, acizii folici sînt capabili să fixeze gruparea hidroximetilică ($-CH_2OH$) sau gruparea formimino (-CH-NH), pe care le transferă altor substanțe.

Așa cum s-a arătat mai sus, unii compuși organici sînt strîns legați de molecula proteică a enzimei, formînd grupările prostetice, ca, de pildă, flavinadenindinucleotidul (FAD) și flavinadeninmononucleotidul (FMN), care intră în constituția aminoacidoxidazelor, xantinoxidazei și citocromreductazei. Proprietățile oxidoreductoare ale acestor enzime se datoresc capacității nucleului izoaloxazinic din structura moleculară a FAD de a fixa și a ceda ioni de hidrogen.

Vitaminele și derivații lor au un rol important în reacțiile enzimatice prin faptul că alcătuiesc grupările active ale unor enzime. Astfel, vitamina B_1, sub forma derivatului său numit tiaminpirofosfat, joacă rolul de grupare prostetică pentru unele enzime, ca, de pildă, cocarboxilaza, și pentru sistemul enzimatic de decarboxilare oxidativă a α-cetoacizilor. Vitamina B_2, sau riboflavina, este coenzima unui mare număr de enzime reductoare, numite flavoproteinenzime (FAD și FMN), iar vitamina PP, sau nicotinamida, intră în structura moleculei dehidrogenazelor NAD și NADP. Vitamina B_6, sub forma derivatului ei fosforic, numit piridoxalfosfat, are funcții enzimatice extrem de variate. Ea este coenzima transaminazelor, decarboxilazelor, aminoacidoxidazelor, precum și a unei serii de alte enzime. Vitamina B_6 intervine în procese biochimice de mare importanță, ca, de exemplu, sinteza aminoacizilor din cetoacizi pe calea transaminării; decarboxilarea și dezaminarea aminoacizilor; formarea și oxidarea aminelor; sinteza ureei, acidului uric, purinei și pirimidinelor; metabolizarea triptofanului, a aminoacizilor sulfurați și a oxiaminoacizilor. În sfîrșit, vitamina H, sau biotina, intră în constituția unor enzime care catalizează reacțiile de decarboxilare a acizilor grași.

Scanned with OKEN Scanner

Activatorii enzimatici sînt substanțe chimice care accelerează *cinetica* reacției enzimatice. Cei mai importanți sînt cationii metalici: ionii de sodiu (Na^+), potasiu (K^+), rubidiu (Rb^+), cesiu (Cs^+), magneziu (Mg^{++}), calciu (Ca^{++}), zinc (Zn^{++}), cadmiu (Cd^{++}), crom (Cr^{+++}) cupru (Cu^{++}), mangan (Mn^{++}), fier (Fe^{++}), cobalt (Co^{++}), nichel (Ni^{++}), aluminiu (Al^{+++}), amoniu (NH_4^+). Toți acești cationi au un număr atomic între 11 și 55. S-a constatat că nici un metal cu un număr atomic peste 55 nu acționează ca activator de enzime.

Activarea prin cationi este un fenomen complex. Anumite metale activează o enzimă la o concentrație determinată și inhibă aceeași enzimă la o altă concentrație. Același ion metalic poate acționa în mod opus asupra cineticii a două enzime foarte apropiate. De exemplu, adenozintrifosfataza este activată de Mg^{++} și inhibată de Ca^{++}, în timp ce miozinadenozintrifosfataza este inhibată de Mg^{++} și activată de Ca^{++}. O enzimă poate necesita prezența simultană a doi cationi avînd, în general,. un număr de valențe diferit. Astfel, pantotenatsintetaza, enzimă care sintetizează acidul pantotenic necesită prezența de Mg^{++}, sau Mn^{++} și NH_4^+ sau K^+.

Efectul activant al ionilor metalici se datorește unor mecanisme diferite. Astfel, metalul poate constitui o parte a centrului activ al enzimei, ca în cazul difeniloxidazei care cuprinde ioni de cupru. Ea este inactivată atunci cînd acești ioni sînt înlăturați, dar se poate reactiva prin încorporare de Cu^{++} în centrul său activ. Ionii metalici pot constitui o legătură între enzimă și substrat combinîndu-se cu ambele (formarea unui complex enzimă-metal-substrat). Această combinație favorizează menținerea substratului în centrul activ al enzimei. Mărirea cineticii reacției enzimatice de către un metal poate avea la bază schimbarea constantei de echilibru între substrat și derivatul său. De exemplu, ionul metalic poate elimina din reacție acest derivat prin formarea unei sări insolubile. Printr-un astfel de mecanism ionii de calciu activează lipaza, combinîndu-se cu acizii grași eliberați din substrat. De asemenea metalele pot acționa complexînd un inhibitor al reacției enzimatice.

Activarea poate fi provocată și de anioni, dar numai în cazuri foarte rare. Menționăm activarea α-amilazelor de origine animală prin ionii de clor, aceea a fumarazei prin anionii bi- și trivalenți.

Activitatea catalitică a enzimelor, viteza cu care se desfășoară reacțiile enzimatice la nivelul diferitelor structuri biologice este influențată de numeroși factori, dintre care cei mai importanți sînt: concentrația enzimei, concentrația substratului, temperatura și pH-ul mediului în care se desfășoară reacțiile precum și prezența

Scanned with OKEN Scanner

sau absența activatorilor și inhibitorilor enzimatici. Viteza cu care se desfășoară o reacție enzimatică este direct proporțională cu concentrația enzimei. De asemenea, dacă concentrația substratului crește, viteza reacției enzimatice crește rapid la concentrații mici ale substratului și mai puțin rapid la concentrații mari ale acestuia. În general, relația dintre concentrația substratului și rapiditatea reacției enzimatice poate fi exprimată grafic printr-o hiperbolă rectangulară. În cazul unor enzime, creșterea substratului determină scăderea vitezei reacției enzimatice. Concentrația ionilor de hidrogen din mediul în care se desfășoară reacția, adică pH-ul, poate influența reacția enzimatică prin distrugerea enzimei, ionizarea enzimei, a substratului sau a complexului enzimă-substrat. Fiecare enzimă are un pH optim de activitate. Un alt factor care influențează activitatea enzimelor este temperatura mediului. Excesul de căldură inactivează enzima și scade viteza de reacție. Inactivarea prin căldură se datorește efectului de denaturare pe care aceasta îl exercită asupra enzimei. Cea mai mare parte a enzimelor purificate și cristalizate poate fi inactivată numai după cîteva minute de expunere la temperaturi cuprinse între 60 și 80° C. În limite optime, creșterea temperaturii mediului cu 10°C determină o creștere a reacțiilor enzimatice de două sau de trei ori. În sfîrșit, prezența diferiților inhibitori poate inactiva reacțiile enzimatice în mod reversibil sau ireversibil.

Mecanismul catalizei biologice, și în special cel al activității enzimatice, reprezintă una dintre problemele fundamentale ale enzimologiei și biologiei moderne. Deși numărul de lucrări consacrate lămuririi acestei probleme este destul de mare, deși s-au făcut progrese remarcabile în acest domeniu, mecanismul catalizei biologice nu este încă complet elucidat. Procesul de cataliză enzimatică se realizează prin combinarea substratului cu enzima. Prin substrat se înțelege orice substanță care este supusă unor transformări biochimice de degradare sau de sinteză sub acțiunea enzimelor biocatalizatoare. Dacă însă combinarea enzimei cu substratul este o realitate demonstrată, natura combinației enzimă-substrat, efectele acestei combinații și modul în care decurge cataliza biologică rămîn încă de domeniul ipotezelor. Teoriile emise pînă în prezent au la bază o idee comună, și anume că această combinație dintre enzimă și substrat se soldează mai întîi cu un fel de activare a moleculelor substratului, datorită unei polarizări la nivelul legăturilor chimice interesate în reacție. Elaborarea acestor teorii a avut loc paralel cu dezvoltarea teoriei electronice a valenței și a mecanis-

Scanned with OKEN Scanner

melor reacțiilor organice. În general, o reacție enzimatică se exprimă sub forma a două ecuații :

1) Substrat + enzimă $\rightleftarrows$ substrat — enzimă,

2) Substrat — enzimă $\rightleftarrows$ compus X + enzimă

în care compusul X reprezintă o substanță rezultată din acțiunea enzimei asupra substratului.

Concentrația substratului pentru care viteza de reacție atinge jumătate din valoarea vitezei maxime este cunoscută sub numele de *constanta lui Michaelis*; ea reprezintă constanta de disociere a complexului enzimă-substrat. O dată cu creșterea concentrației substratului crește și concentrația complexului enzimă-substrat, pînă ce întreaga cantitate de enzimă este legată de substrat. La punctul care formează constanta lui Michaelis, numai jumătate din cantitatea de ferment este legată sub formă de complex enzimă-substrat. Cu cît afinitatea enzimei pentru substrat este mai mare, cu atît concentrația de substrat necesară semisaturării enzimei este mai mică. Privită din acest punct de vedere, constanta lui Michaelis poate fi folosită ca un indicator al intensității activității enzimatice.

Activitatea enzimelor este strîns legată de prezența așa-numitor *inhibitori enzimatici*.

Substanțele care diminuează cinetica unei reacții enzimatice fără a lua parte la ea poartă numele de inhibitori. Numărul lor este extrem de ridicat, ei aparținînd celor mai diferiți compuși chimici. Modul de acțiune al inhibitorilor este foarte variabil. De cele mai multe ori ei acționează asupra enzimelor, dar mecanismul acestei acțiuni nu este întotdeauna același. Datorită unei analogii structurale cu substratul, locul acestuia poate fi luat de inhibitori la nivelul sediului activ al enzimei, fenomenul fiind cunscut sub numele de *inhibiție competitivă*. Exemplul clasic îl constituie acidul malonic. Formula acestui acid ($COOH - CH_2 - COOH$) este foarte apropiată de aceea a acidului succinic ($COOH - CH_2 - CH_2 - COOH$), ceea ce permite acidului malonic să ocupe centrul activ al succinodehidrogenazei și să-i blocheze acțiunea. Unii inhibitori înlocuiesc o funcție chimică a proteinei enzimatice printr-o altă funcție. Reprezentanții cei mai importanți ai acestui grup sînt derivații organofosforici care inhibă specific esterazele. Dintre derivații organofosforici, diizopropilfluorofosfatul a fost deosebit de folosit ca in-

Scanned with OKEN Scanner

hibitor al colinesterazei. Anumite gaze de luptă aparțin acestei categorii de compuși și-și datorează efectul toxic inhibiției colinesterazei.

O altă grupă de inhibitori se combină cu funcțiile tiol (-SH) ale enzimelor. Numeroase enzime cuprind această funcțiune, a cărei integritate poate fi indispensabilă pentru activitatea lor. Acești inhibitori, folosiți în enzimologie pentru identificarea naturii tiolice a enzimelor, sînt numeroși: metale sau derivați organometalici (mercur, argint, cupru, paracloromercuribenzoat, derivați arsenioși) etc. Acțiunea unor inhibitori constă în denaturarea proteinei enzimatice (săruri de metale grele, acizi tari etc.).

În afară de acest efect direct al inhibitorilor asupra enzimelor, anumiți compuși micșorează viteza reacției enzimatice prin acțiunea lor asupra substratului sau asupra metalului activant. Astfel, cianura de potasiu și hidrogenul sulfurat inactivează citocromoxidaza combinîndu-se cu fierul, care constituie elementul indispensabil al enzimei.

Inhibiția poate fi reversibilă sau ireversibilă. În primul caz acțiunea enzimatică este restabilită după eliminarea inhibitorului prin dializă sau pe altă cale. În al doilea caz inhibiția este ireversibilă.

Importanța biochimică și practică a inhibitorilor este foarte mare. Folosirea lor a ușurat studiul structurii și modului de acțiune al enzimelor. Totodată, inhibitorii enzimelor joacă un rol considerabil în toxicologie, farmacologie și în terapeutică.

Inhibitorii competitivi sînt substanțe care se combină cu centrul activ al enzimei luînd locul substratului. Din această cauză ei permit, într-o oarecare măsură, să se stabilească natura chimică a centrului activ.

Inhibiția *feed-back* reprezintă un mecanism foarte important al reglării cantitative al metabolismului care constă din inhibiția primei etape a unui lanț de reacție prin metabolitul ultimei etape sau al uneia din ultimele etape. Aspartattranscarbamilaza, de exemplu, care catalizează prima reacție din sinteza citozinei, este inhibată de citidintrifosfat, iar acid-Δ-aminolevulinicsintetaza, enzimă din prima etapă a formării protoporfirinei heminice, este inhibată de hemină. Inhibiția feed-back este unul din mijloacele cele mai eficace de care dispune celula pentru a împiedica formarea excesivă a unui metabolit.

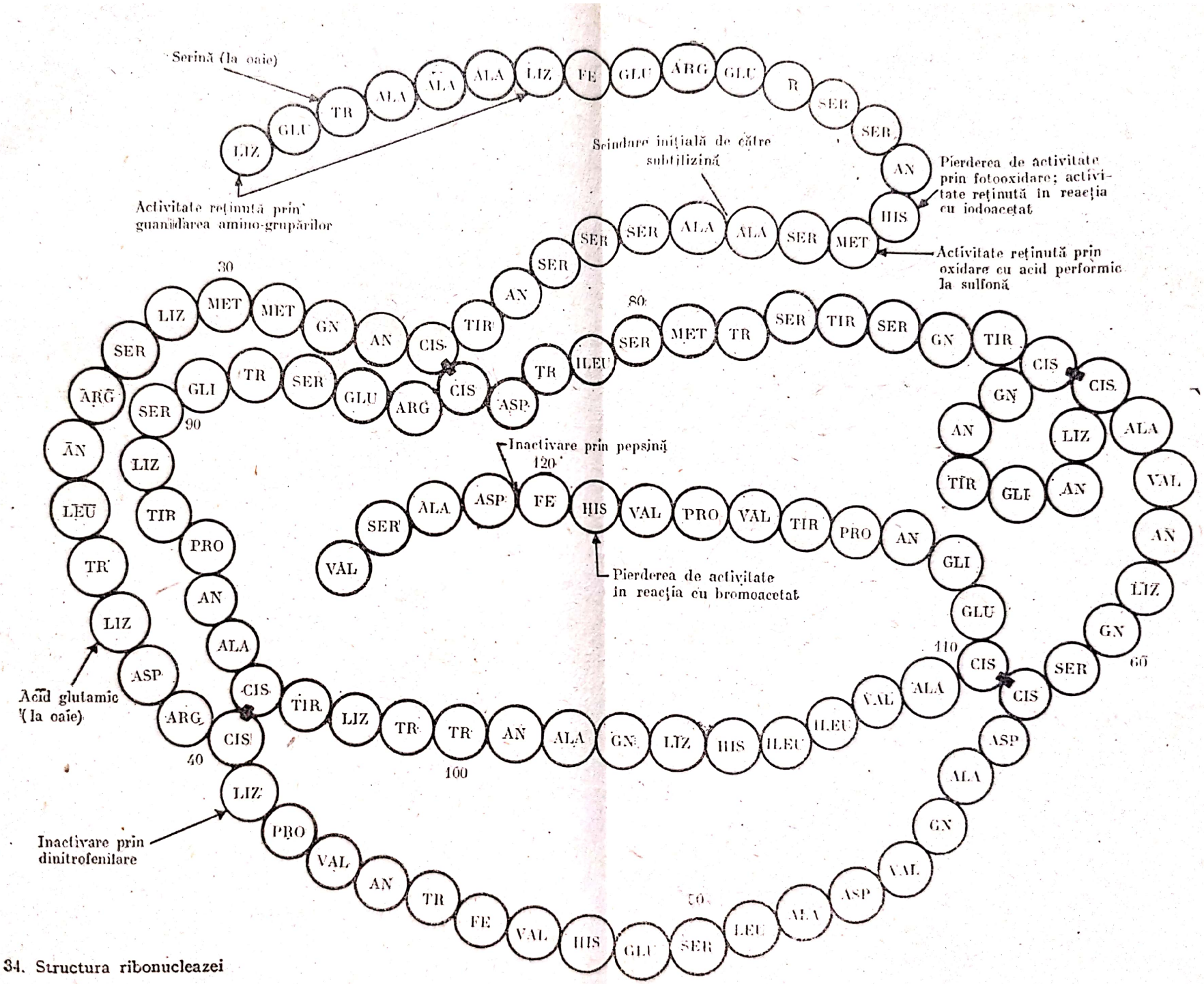
Una dintre cele mai de seamă caracteristici ale enzimelor este stricta lor specificitate, fenomen de importanță biologică fundamentală fără care succesiunea ordonată, armonică a reacțiilor metabolice care se petrec în materia vie nu ar exista, iar viața ar fi imposibilă. *Gradul de specificitate* variază de la enzimă la enzimă. În unele cazuri, enzima acționează asupra unei singure substanțe și catalizează o singură reacție biochimică. În alte cazuri, ea acționează asupra mai multor substanțe înrudite ca structură chimică, dar catalizează aceeași reacție în toate cazurile. Diferite grupuri de enzime au o specificitate foarte variabilă, cele mai multe însă avînd un înalt grad de specificitate, ca, de exemplu, dehidrogenazele, fosfochinazele și sintetazele. Stricta specificitate enzimatică în cazul enzimelor menționate este valabilă pentru ambii termeni ai reacției bimoleculare sau pentru toți cei trei termeni în cazul reacțiilor trimoleculare catalizate de sintează. Desigur, în unele cazuri, ca, de exemplu, în cel al alcooldehidrogenazei, enzima manifestă o specificitate deosebită pentru unul dintre substratele reacției și un grad foarte redus de specificitate pentru celălalt termen al reacției, care poate fi orice substanță din seria alcoolilor. În afară de enzimele strict specifice, există și unele mai puțin specifice, ca, de pildă, esterazele, fosfatazele și peptidazele, care acționează atît asupra unui număr mare de esteri ai acidului fosforic, cît și a numeroase peptide. Nu toate esterazele au însă același grad de specificitate.

În unele cazuri, specificitatea enzimatică este dublă. Așa, de exemplu, xantinoxidaza manifestă un înalt grad de specificitate pentru compușii din seria purinelor, dar oxidează în același timp și aldehidele. La fel se întîmplă cu aldehidoxidaza, care catalizează nu numai reacțiile de oxidare a aldehidelor, ci și pe cele ale derivaților de piridină și de chinolină. Există însă și enzime care acționează asupra substratului lor pe două căi diferite, ca, de exemplu decarboxilaza acidului malic și izocitricdehidrogenaza, care fie că reduce, fie că decarboxilează cetoacizii corespunzători.

Enzimele nu manifestă numai o specificitate chimică, adică în raport cu structura compusului asupra căruia acționează , ci și o specificitate în raport cu configurația spațială a moleculelor substratului, cu modul cum sînt aranjați atomii în molecula acestuia, numită *specificitate sterioizomerică*. Atunci cînd substratul conține un singur atom de carbon asimetric, enzima acționează numai asupra unuia dintre cei doi izomeri optici, în care caz specificitatea este absolută, deoarece izomerul opus rămîne intact.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner



34. Structura ribonucleazei

Cînd substratul asupra căruia acționează enzima este compus din molecule simetrice, iar produsul în care acesta se transformă conține un atom de carbon asimetric, activitatea catalitică a enzimei se soldează cu sinteza unui singur izomer optic, realizînd o adevărată sinteză asimetrică. Așa, de pildă, reducerea acidului piruvic de către lactatdehidrogenază are drept urmare formarea în exclusivitate de L-lactat. Dacă reacția de reducere a acidului piruvic la acid lactic este catalizată de alte dehidrogenaze ca, de pildă, de către D-lactatdehidrogenaza, se formează exclusiv acidul D-lactic.

Mai mult, specificitatea enzimatică este în raport nu numai cu izomeria D și L, ci și cu alte tipuri de izomerie geometrică. În cazul cînd substratul are o configurație geometrică în spațiu de forma cis sau trans (poziția în spațiu a unei grupări funcționale a unui atom de carbon față de atomul vecin), enzima specifică acționează numai asupra unuia dintre acești izomeri. Așa, de pildă, enzima numită fumarază acționează numai asupra acidului fumaric și nu acționează de loc asupra acidului malic. Totodată, această enzimă manifestă ambele tipuri de stereospecificitate, adică atît pentru acidul fumaric, cît și pentru acidul L-malic. Un număr oarecare de enzime manifestă aproximativ aceeași activitate catalitică asupra ambelor categorii de izomeri.

Enzimele, ca și celelalte proteine din organism, sînt în permanență degradate și reînnoite. Sinteza continuă a enzimelor a fost pusă în evidență prin injectarea la animalele de laborator a aminoacizilor marcați cu izotopi radioactivi. Pe această cale s-a stabilit că procentul diferitelor enzime din organism nu este fix. În general el scade atunci cînd aportul protidic alimentar este insuficient. Pe de altă parte, creșterea cantității de substrat aduce după sine creșterea procentului anumitor enzime (enzime adaptive). De pildă, concentrația renală de alcool-dehidrogenază crește la șobolani după administrarea de cantități mari de alcool. La aceeași specie conținutul ficatului în arginază poate fi înzecit în urma unui regim alimentar hiperprotidic, care duce la un exces de formare de uree.

Mecanismul biosintezei enzimelor se confundă cu acela al proteinelor în general. Sinteza este genetic controlată și se admite că fiecare enzimă se află sub dependența unei gene speciale (o genă — o enzimă). Acest control genetic al biosintezei enzimelor a fost studiat în special în cursul mutațiilor spontane și mai ales al celor provocate la bacterii. Metoda cea mai folosită pentru de-

Scanned with OKEN Scanner

determinarea unei mutații enzimatice constă în incubarea unei tulpini bacteriene cu un substrat pentru care microorganismul nu posedă o genă enzimatică adecvată. În cursul unei multiplicări bacteriene, un anumit număr de celule devin capabile să sintetizeze enzima noului substrat și, multiplicîndu-se mai rapid decît celelalte celule microbiene, ele vor constitui populația predominantă din cultură. Controlul genetic este dovedit și de biosinteza ereditar diminuată sau de absența unei enzime care există în stare normală. În patologia umană, aceste perturbări sînt cunoscute sub numele de *enzimopatii* și se caracterizează printr-o deficiență ereditară a unei enzime determinate. Această deficiență poate crea o intoleranță față de substratul de origine alimentară sau contribuie la acumularea unui intermediar metabolic toxic. Enzimopatiile sînt afecțiuni ereditare.

În unele cazuri enzimele provin din proteine specifice inactive numite enzimogeni, care sînt precursori ai enzimelor. Așa de exemplu, pepsina provine din pepsinogen, tripsina din tripsinogen, carboxipeptidaza din precarboxipetidiză etc. Transformarea enzimogenilor în enzime corespunzătoare este determinată de acțiunea ionilor de hidrogen și în special de enzimă însăși. Precursorii sînt molecule mai voluminoase decît enzimele corespunzătoare, care iau naștere prin scurtarea lanțului polipeptidic al enzimogenului. Existența unui mare număr de enzime în stare de precursori reprezintă un mecanism protector remarcabil, care permite evitarea autodigestiei țesuturilor, a coagulării sîngelui în interiorul vaselor etc.

Cîteva enzime din natura vie

Progresele realizate de enzimologia modernă au accentuat dificultățile privind denumirea și clasificarea enzimelor existente în natura vie. Am văzut că procesele metabolice, reacțiile chimice care stau la baza manifestărilor fundamentale ale materiei vii sînt în cea mai mare parte enzimatice. S-a menționat, de asemenea, că pînă în prezent se cunosc peste 700 de enzime, dintre care o mare parte au putut fi izolate, purificate și cristalizate. Enzimele au fost clasificate după diferite criterii, ca, de pildă, după substratul sau substanțele pe care le transformă, după natura reacției chimice catalizate etc. De aceea nomenclatura multor enzime s-a format prin adăugarea la numele substratului a sufixu-

Scanned with OKEN Scanner

lui *aza*. De exemplu, enzima care descompune lipidele poartă numele de lipază, cea care descompune proteinele se numește proteinază etc.

Există însă și enzime care acționează asupra mai multor substraturi, în care caz au fost denumite ținîndu-se seama de acțiunea reacției enzimatice. Așa, de exemplu, enzimele care produc dehidrogenarea unui substrat au fost numite dehidrogenaze.

După caracterul reacției chimice catalizate, enzimele au fost grupate în : hidrolăze, fosforilaze, oxidoreductaze, transferaze, decarboxilaze, hidraze, izomeraze și mutaze. Hidrolazele, sau enzimele hidrolitice, scindează moleculele substratului prin adiție de apă, iar fosforilazele desfac moleculele de substrat cu ajutorul acidului fosforic. Oxidoreductazele catalizează reacțiile oxidoreductoare din materia vie, iar transferazele reacțiile de transfer al unor radicali sau grupări chimice de pe un substrat pe altul. Decarboxilazele favorizează reacțiile de îndepărtare a grupării carboxilice de pe substrat, iar hidrazele reacțiile reversibile de adiție de apă pe molecula substratului. În sfîrșit, izomerazele și mutazele catalizează reacții intramoleculare ce au loc în moleculele substratului. După clasificarea și nomenclatura internațională, sistemele enzimatice cunoscute pînă în prezent sînt împărțite, în raport cu natura reacțiilor catalizate, în șase clase principale : oxidoreductaze, transferaze, hidrolaze, liaze, izomeraze și ligaze. În cadrul fiecăreia dintre aceste clase principale au fost grupate un număr, mai mare sau mai mic, de subclase, care, la rîndul lor, se subîmpart în unități simple după tipul reacției și după natura substratului catalizat. În cele ce urmează vom prezenta cîteva dintre enzimele mai importante, subliniind rolul lor în organismele vii.

Proteinele, lipidele și glucidele sînt descompuse în unitățile lor structurale (aminoacizi, acizi grași și glicerol, monozaharide) sau în compuși intermediari cu ajutorul enzimelor numite hidrolaze.

Proteinele, atît cele exogene, cît și cele endogene, sînt atacate de un număr mare de enzime, cunoscute sub numele generic de *enzime proteolitice (proteinaze sau peptidaze)*. Aceste enzime catalizează reacția de scindare a legăturilor dintre atomii de carbon și azot (C—N), numite și legături peptidice, prezente în molecula proteinelor și a produselor lor de degradare, adică a polipeptidelor și dipeptidelor, pînă la stadiul final de aminoacizi. Ele fac parte din categoria enzimelor hidrolitice, întrucît reacția de desfacere a legăturilor peptidice are loc cu participarea moleculelor de apă.

Scanned with OKEN Scanner

Pepsina, enzimă proteolitică prezentă în sucul gastric al animalelor superioare și al omului, atacă un mare număr de proteine, inițiind digestia. Pepsina este activă numai în mediu puternic acid, la un pH în jur de 1,5—2. Acțiunea hidrolitică a acestei enzime este mai intensă asupra legăturilor peptidice, care se stabilesc între gruparea aminică a unui aminoacid aromatic (tirozina sau fenilalanina) și o grupare carboxilică a unui aminoacid dicarboxilic (acidul aspartic sau glutamic). Pepsina atacă doar legăturile peptidice pe care le realizează între ei L-aminoacizii. Produsele de hidroliză rezultate din scindarea macromoleculei proteice sub acțiunea pepsinei sînt fragmente polipeptidice, heptapeptide sau octapeptide.

Chimozina, sau labfermentul, enzimă proteolitică secretată de stomacul vițeilor tineri, are proprietatea de a coagula laptele. În procesul de coagulare a laptelui s-ar forma produși de hidroliză parțială a cazeinei (proteina din lapte), care, combinîndu-se cu ionii de calciu, ar forma săruri insolubile.

Tripsina este o enzimă proteolitică care hidrolizează slab proteinele native și foarte intens proteinele denaturate. Această enzimă secretată de pancreas, care acționează la un pH alcalin, rupe legăturile peptidice dintre arginină sau lizină și dintre alți aminoacizi. Tripsina realizează scindarea proteinelor pînă la stadiul de peptide și, într-o mică proporție, de aminoacizi liberi.

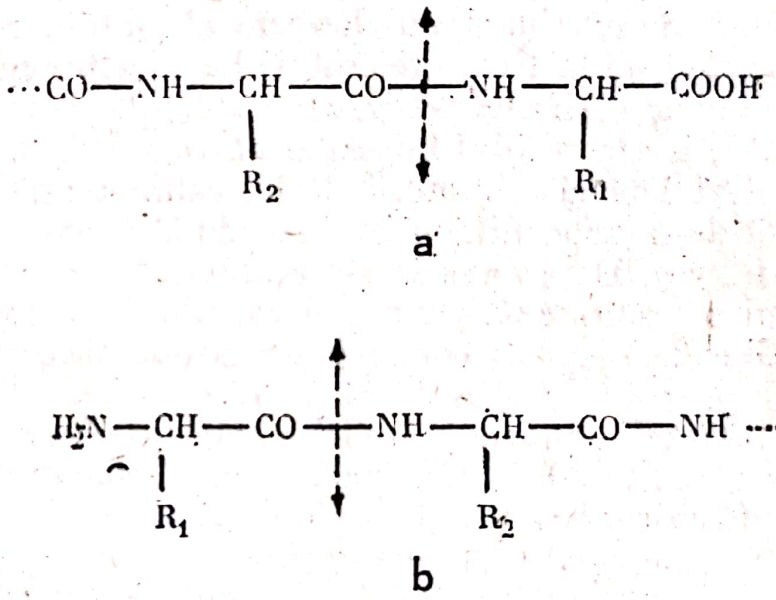
Chimotripsina, enzimă proteolitică secretată de pancreas, atacă legăturile peptidice în care sînt implicați radicalii aromatici. Ea se deosebește totuși de pepsină prin faptul că rupe legătura peptidică la care participă gruparea carboxilică a acidului aromatic și nu cea la care participă gruparea aminică, ca în cazul pepsinei. Cu alte cuvinte, pepsina și chimotripsina atacă aceleași tipuri de proteine, dar în puncte de legătură peptidică diferite.

Carboxipeptidazele scindează legăturile peptidice care se găsesc în imediata apropiere a unui aminoacid terminal, a cărei grupare carboxilică este liberă (fig. 35, *a*), iar *aminopeptidazele* atacă legăturile peptidice adiacente unui aminoacid terminal care are gruparea aminică liberă (fig. 35, *b*). În sfîrșit, așa-numitele *dipeptidaze* desfac prin reacție hidrolitică legătura peptidică dintre doi aminoacizi. Acum putem înțelege cum sînt descompuse proteinele alimentare care pătrund în tubul digestiv al animalelor și al omului. Ele sînt atacate succesiv de către enzimele secretate de mucoasa gastrică, pancreas, mucoasa intestinală pînă la termenii finali, și

Scanned with OKEN Scanner

anume aminoacizii, capabili de a trece prin mucoasa intestinală în sînge și apoi în diferitele țesuturi ale organismului viu.

Lipidele sau grăsimile sînt descompuse și ele în elementele constitutive de către enzimele hidrolitice, care poartă numele de lipaze. După cum s-a arătat mai înainte, în grupul lipidelor se deosebesc mai multe categorii de compuși, ca de pildă : grăsimile simple sau gliceridele, care sînt esteri ai acizilor grași cu glicerolul ; steridele, esteri ai unor alcooli monovalenți, numiți steroli, cu acizi grași ; fosfatidele, esteri ai unor alcooli cu acizi grași care conțin în molecula lor acid fosforic și baze azotate, ca, de pildă, lecitinele etc.



35. Activitatea biocatalizatoare a carboxipeptidazelor și a aminopeptidazelor :
a — carboxipeptidaza desface legăturile peptidice din imediata vecinătate a carboxilului liber ;
b — aminopeptidaza desface legăturile peptidice din imediata apropiere a grupărilor aminice libere

Lipazele sînt enzime care catalizează reacția reversibilă de scindare a grăsimilor neutre, adică a esterilor glicerolului cu acizii grași superiori. Ele mai poartă și numele de *esteraze*, după natura chimică a legăturilor pe care le scindează. Aceste enzime se găsesc aproape în toate țesuturile organismelor animale, dar cea mai importantă este lipaza secretată de glanda pancreatică, care descompune grăsimile alimentare în acizi grași și glicerol. În lumea vegetală, lipazele se găsesc îndeosebi în semințe.

Colesterolesteraza este o enzimă hidrolitică care descompune esterii colesterolului în acizi grași superiori și colesterol. Această

Scanned with OKEN Scanner

enzimă a fost pusă în evidență atît în țesuturi (ficat, pancreas, rinichi, intestin), cît și în serul sanguin.

Lecitinazele sînt enzime hidrolitice care eliberează acizii grași din moleculele lecitinelor. Ele au fost puse în evidență în veninul șerpilor, albinelor, scorpionilor, în mucegaiuri, precum și în diferite organe ale mamiferelor (pancreas).

Colinesterazele sînt enzime hidrolitice care catalizează reacția de hidroliză a acetilcolinei, substanță cu rol deosebit de important în fiziologia neuromusculară și îndeosebi în transmiterea influxului nervos la nivelul joncțiunii dintre nerv și mușchi. Au fost puse în evidență în diferite țesuturi și umori. Țesutul nervos, de pildă, conține o colinesterază a cărui activitate se manifestă în mod preferențial la nivelul sinapselor centrale și în mod cu totul particular în nucleii de la baza creierului. La nivelul substanțelor albe și al neuronilor periferici s-a pus în evidență o colinesterază mai puțin activă, iar în țesutul muscular enzima este concentrată în special la nivelul plăcilor motorii. Rolul colinesterazei la acest nivel este legat de transportul ionilor de sodiu în timpul transmiterii influxului nervos. De asemenea s-a arătat că elementele figurate ale sîngelui concentrează o mare parte din colinesteraza sanguină.

Glucidele sînt descompuse de enzime hidrolitice care poartă numele generic de *glicozidaze*. Dintre acestea amintim :

Amilazele, enzime hidrolitice care catalizează reacțiile de hidroliză a amidonului, principala rezervă glucidică a plantelor și substanță cu rol important în alimentația omului și a animalelor. Molecula amidonului poate conține între 500 și 800 de molecule de glucoză, atingînd greutăți moleculare cuprinse între 80 000 și 130 000. Aceste enzime descompun amidonul pînă la mono- (glucoză) și dizaharide (maltoză). La mamifere, amilazele sînt sintetizate în special de către pancreas și glandele salivare. Amilaze au fost puse în evidență și în alte țesuturi, ca : ficat, mușchi, țesut adipos etc.

Maltaza catalizează desfacerea hidrolitică a maltozei, punînd în libertate cele două molecule de glucoză care o alcătuiesc. Această enzimă este foarte răspîndită în natură. La om, ea este secretată de mucoasa intestinală.

Zaharaza descompune hidrolitic molecula de zaharoză în fructoză și glucoză, iar *lactaza* desface molecula de lactoză în glucoză și galactoză. Datorită acestor enzime, amidonul, zaharoza, lactoza și maltoza sînt descompuse în elementele lor structurale (glucoza, fructoza, galactoza), care sînt resorbite apoi de sînge.

Scanned with OKEN Scanner

Transferazele, care au capacitatea de a transfera resturi moleculare de pe o substanță donatoare pe una acceptoare, ocupă un rol important în metabolismul intermediar. De pildă, transferul grupării metilice ($-CH_3$) de pe o substanță pe alta se face cu ajutorul enzimelor numite transmetilaze. Dintre donatorii de grupări metilice fac parte metionina, colina și betaina, iar dintre acceptori homocisteina, colamina, glicina, noradrenalina, nicotinamida și acidul guanidinacetic.

Transferul grupării aminice de pe un aminoacid donator pe un cetoacid acceptor se realizează în metabolismul celular datorită activității catalitice a *transaminazelor*. Donatori de grupare aminică pot fi majoritatea aminoacizilor cunoscuți, dar cei mai importanți din acest punct de vedere sînt acizii glutamic și aspartic. Dintre cetoacizii care servesc ca acceptori menționăm acidul piruvic, oxalacetic și α-cetoglutaric. În reacțiile de transaminare, aminoacidul donator de grupare aminică se transformă în cetoacid, iar acesta în aminoacid. Așa, de exemplu, reacția de transaminare dintre alanină și acidul α-cetoglutaric se soldează cu formarea de acid piruvic, provenit din alanină, și de acid glutamic, provenit din acidul cetoglutaric (fig. 47). Transaminazele, enzime foarte răspîndite în natură, au rol în metabolism, în special în cel proteic. Datorită reacțiilor de transaminare, organismele vii pot sintetiza un mare număr de aminoacizi.

În sfîrșit, tot din grupa transferazelor fac parte și *transacilazele*, care au proprietatea de a cataliza reacția de transfer a radicalilor numiți acili (R—CO—). Dintre aceștia, cel mai important este radicalul acetil ($CH_3—CO$), care, prin intermediul coenzimei A (CoA), este transferat unor substanțe ca, de exemplu, colina, sterolii, acidul acetic, acidul fosforic etc. Ca donatori de grupare acetil menționăm îndeosebi acidul piruvic provenit din degradarea glucidelor, ca și alți compuși intermediari proveniți din degradarea acizilor grași și a aminoacizilor.

Transfosfatazele sînt enzime care catalizează reacțiile biochimice de transfer a grupării fosfat, fără apariția de acid fosforic liber. Gruparea fosfatică poate fi transferată de la acidul adenozintrifosforic (ATP) la o altă substanță acceptoare (fosfokinaze) sau de la un compus organic oarecare la un alt compus organic. Transferul grupării fosfat se poate face însă și în cadrul aceleiași molecule de la o poziție la alta (fosfomutaza). Transfosfatazele și în special fosfokinazele dețin un rol important în metabolismul energetic celular.

Scanned with OKEN Scanner

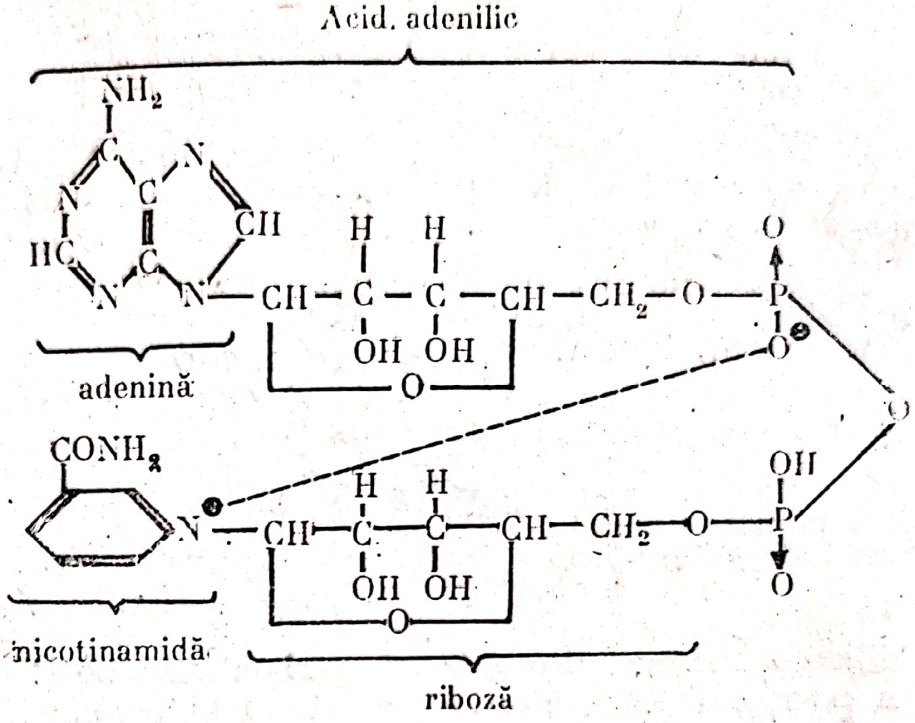
Transglicozidazele fac parte tot din grupa transferazelor. Ele transferă un rest glucidic de pe un donator pe un acceptor. Aceste enzime se întîlnesc atît în regnul animal, cît și în cel vegetal, luînd parte la biocataliza reacțiilor de formare a amidonului și glicogenului. Dintre transglicozidaze amintim *fosforilaza*, care în organismele vegetale participă la biosinteza amidonului, iar în cele animale la degradarea glicogenului. Fosforilaza este enzima care inițiază degradarea glicogenului, catalizînd reacția de formare a glucozo-1-fosfatului.

În metabolismul celular, un rol deosebit îl au reacțiile de oxido-reducere, care în ansamblul lor formează mecanismul fundamental prin care energia înmagazinată sub formă potențială din compușii alimentari este eliberată și pusă la îndemîna celulei pentru a fi folosită în diferite scopuri anabolice sau catabolice sau pentru a fi transformată în alte tipuri de energie (mecanică, electrică, osmotică, nervoasă etc.). Orice reacție de oxidare implică întotdeauna o reacție simultană de reducere și invers, datorită schimbului electronic care are loc între cei doi reactanți. Oxidarea înseamnă în fond o creștere a sarcinilor electric pozitive a substanței care se oxidează, cu alte cuvinte o pierdere de electroni, în timp ce reducerea reprezintă o scădere a sarcinilor electrice pozitive, adică o acceptare de electroni. În schimbul electronic dintre cele două substanțe constatăm că una cedează electroni, oxidîndu-se, iar cealaltă primește electroni, reducîndu-se. Celulele organismelor vii conțin un număr apreciabil de enzime capabile să mijlocească transportul electronilor de la o substanță la alta, deci reacțiile oxidoreductoare; ele poartă numele de enzime oxidoreductoare sau redoxaze. Să facem cunoștință cu cîteva dintre acestea.

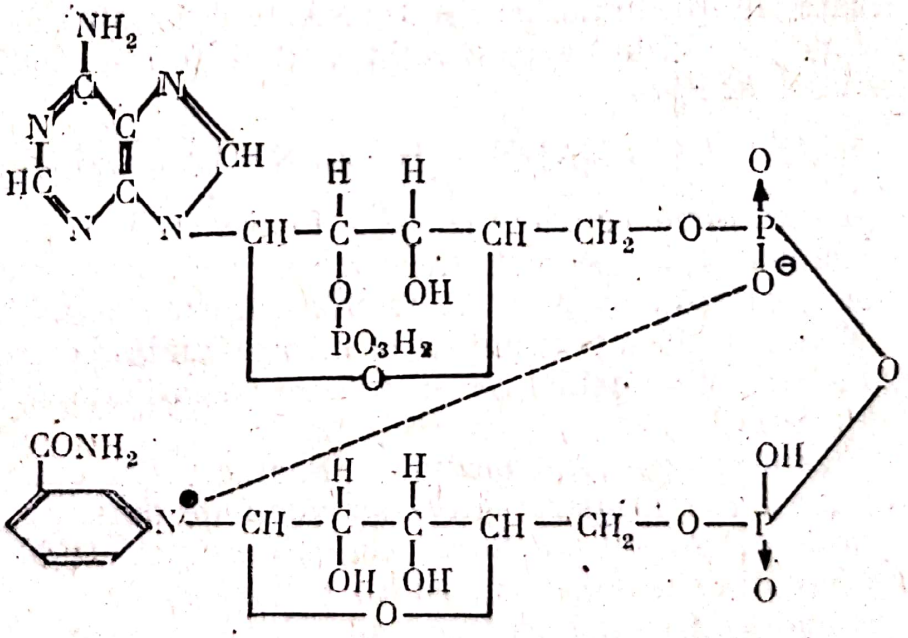
Dehidrogenazele sînt enzime care catalizează reacțiile de transport al hidrogenului de pe un substrat pe altul. Dacă o substanță pierde hidrogenul (adică electroni), se oxidează, iar dacă îl acceptă (primește electroni), se reduce.

Cînd acceptorul de hidrogen este însuși oxigenul, dehidrogenazele se numesc aerobe, iar cînd acceptorul este o substanță organică oarecare dehidrogenazele poartă numele de anaerobe. Dintre dehidrogenazele cunoscute pînă în prezent menționăm pe cele care au ca grupare prostetică *codehidraza I*, sau nicotinadenindinucleotidul (NAD), și *codehidraza II*, sau nicotinadenindinucleotidfosfatul (NADP). Structura chimică a acestor două coenzime este reprezentată în fig. 36. După cum se vede, deosebirea dintre NAD și NADP constă în existența unei molecule de acid fosforic în plus.

Scanned with OKEN Scanner

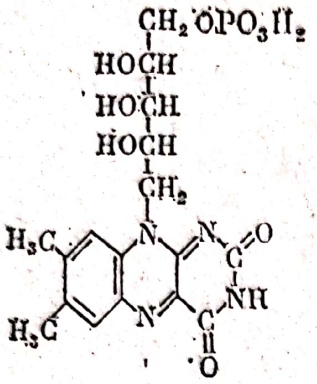


Nicotinadenindinucleotid (NAD)

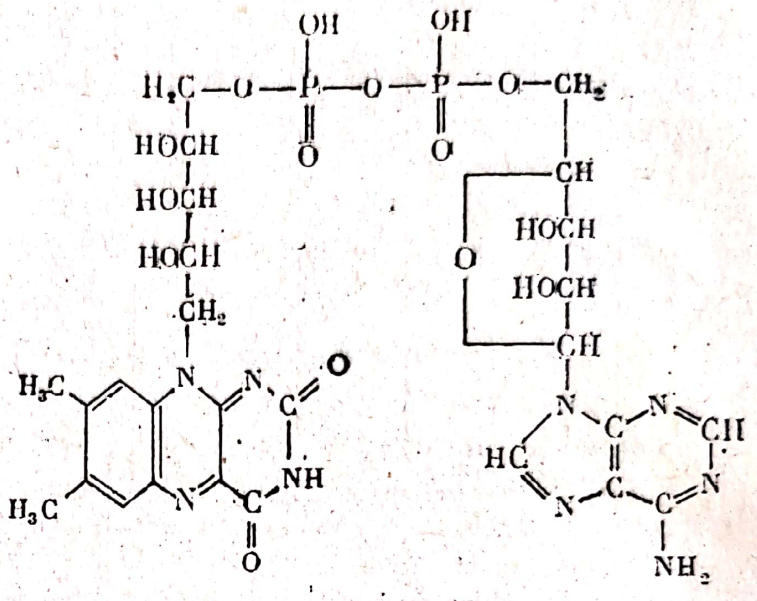


Nicotinamidadenindinucleotidfosfat (NADP)

36. Structura NAD și NADP



37. Structura flavinmononucleotidului (FMN)



38. Structura flavinadenindinucleotidului (FAD)

Fixarea hidrogenului se face la carbonul din poziția 4 și la azotul din poziția 1, care ulterior eliberează hidrogenul sub formă de protoni, azotul devenind trivalent, ca în reacția de mai jos. Fixarea hidrogenului pe NAD și NADP determină o reducere a acestor două codehidraze, reacția putînd fi reprezentată schematic în felul următor :

$$NAD + 2H \rightarrow NADH + H^+ \text{ sau } NADP + 2H \rightarrow NADPH + H^+.$$

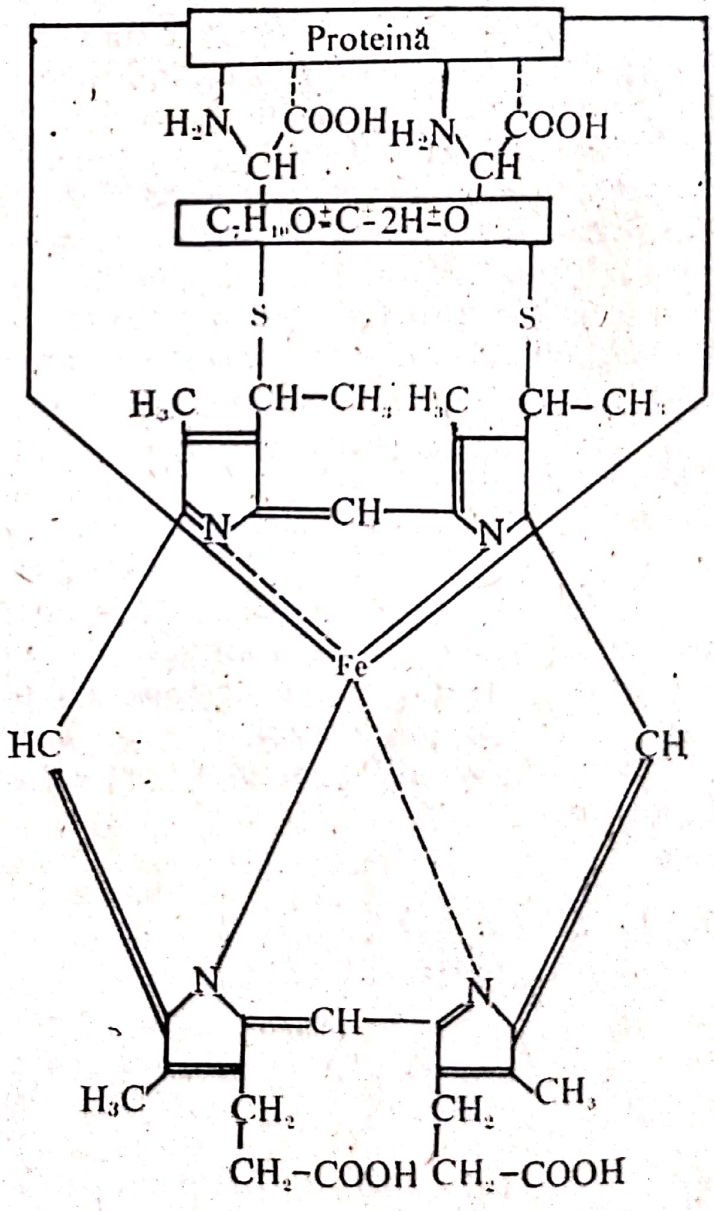
Aceste două codehidraze sînt foarte răspîndite în materia vie, găsindu-se aproape în toate celulele. La om și la animalele superioare, precum și la unele microorganisme, sintetizarea de NAD și NADP se face pornind de la nicotinamidă, iar plantele și mucegaiurile sînt capabile să sintetizeze nicotinamida pornind de la triptofan.

Flavinenzimele, sau enzimele flavinice, sînt enzime oxidoreductoare a căror grupare activă se compune dintr-un *flavin mononucleotid* (FMN) sau din *flavinadenindinucleotid* (FAD). Primul este format din izoaloxazină, ribitil și acid fosforic (fig. 37), flavinadenindinucleotidul conținînd în plus un nucleotid adenilic. Dintre enzimele care conțin în molecula lor FAD amintim aminoacidoxidazele, care oxidează aminoacizii, precum și aminooxidazele, care, acționînd asupra aminelor biogene (histamină etc.), le transformă în produși nesaturați; ulterior aceștia trec în aldehide și amoniac. O enzimă care conține drept grupare prostetică FMN este *fermentul*

respirator galben, descris pentru prima oară de Warburg și Christian; el are rol important în procesul oxidărilor celulare.

Citocromii, substanțe cu structură heminică asemănătoare hemoglobinelor, iau parte la transportul electronilor, avînd astfel un rol catalitic în oxidarea celulară. Ei sînt răspîndiți în toate celulele. Dintre citocromii cunoscuți pînă în prezent *(a, b, c)*, citocromul *c* a fost cel mai bine studiat. El este format dintr-o proteină bazică și o moleculă de hem (fig. 39). Are greutatea moleculară 15 000 și conține circa 0,47% Fe. Cristalele de citocrom *c* au forme variate în raport cu specia și cu tipul de celulă din care este izolat. Citocromul conține în molecula sa și cupru. Acești atomi stabilesc legătura între hem și oxigenul molecular. Citocromii intervin în oxidarea celulară numai după ce substratul a fost atacat de codehidraze și de enzimele flavinice.

Oxidazele, enzime care conțin în molecula lor Fe sau Cu, au proprietatea de a transfera electronii de pe substrat direct pe oxigenul molecular. Dintre oxidazele care conțin Cu menționăm fenoloxidazele, izolate din cartofi și foarte răspîndite în lumea plantelor, care oxidează fenolii, transformîndu-i în chinone. O altă cuproxidază este tirozinaza, care transformă tirozina în dioxifenilalanină (DOPA).



39. Structura citocromului

Aceste oxidaze au rol important în metabolismul substanțelor pigmentare.

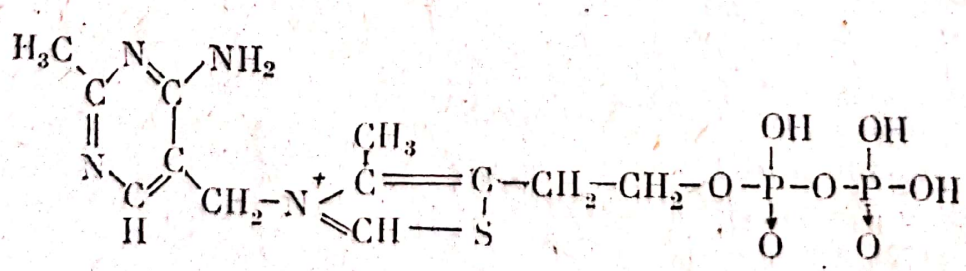
Dintre oxidazele care conțin în molecula lor Fe menționăm *peroxidazele* și *catalazele*. Aceste enzime mijlocesc transferul de hidrogen de pe un donator pe un acceptor, după reacția

$$DH_2 + H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + D,$$

în care DH_2 este donatorul, iar H_2O_2 acceptorul de hidrogen. Peroxidaza a fost pusă în evidență în rinichi, leucocite, lapte, salivă, cartofi, hrean și drojdie de bere, unde acționează asupra hidroperoxizilor, persulfaților, etilperoxizilor și altor substanțe.

Catalazele sînt foarte răspîndite atît în regnul animal, cît și în cel vegetal. Ele conțin hemină, înrudindu-se astfel din punct de vedere structural cu hemoglobinele și cu citocromii. Rolul catalazelor este acela de a descompune rapid apa oxigenată (H_2O_2) care rezultă în procesul oxidării celulare și care are o acțiune nocivă asupra celulei. De altfel s-a constatat că enzima cristalizată are o activitate deosebit de accentuată. Astfel, la temperatura de 0°C, o moleculă de catalază este capabilă să descompună într-un minut 5 000 000 de molecule de H_2O_2.

Decarboxilazele sînt enzime care catalizează reacția de îndepărtare a grupării carboxilice de pe anumiți compuși, ca, de pildă, de pe acidul piruvic, aminoacizi etc. Gruparea prostetică a acestora este formată dintr-un derivat al vitaminei B_1, numit tiaminpirofosfat sau cocarboxilază (TPP), care a putut fi obținut sintetic din clorhidrat de tiamină (vitamina B_1) și un amestec de pirofosfat de sodiu și acid fosforic. Nu toate viețuitoarele sînt capabile să sintetizeze această coenzimă, ci numai microorganismele din flora intestinală și plantele, restul organismelor primind-o din alimente.



40. Structura tiaminpirofosfatului (TPP) (cocarboxilaza)

În sfîrșit, *hidratazele* sînt enzime care catalizează fixarea sau îndepărtarea apei pe un substrat. Ca exemple putem cita fumaraza și aconitaza, care intervin în ciclul acizilor tricarboxilici. O altă enzimă din grupul hidratazelor, și anume anhidraza carbonică sau carbonanhidraza, în a cărei moleculă se găsește și zinc, a fost pusă în evidență în rinichi, globulele roșii, mucoasa gastrică, sistemul nervos central și în ochi. Ea catalizează în mod specific reacția de combinare a bioxidului de carbon cu apa:

$$CO_2 + H_2O \rightleftarrows H_2CO_3.$$

Enzima are o deosebită importanță în schimbul de ioni care are loc la nivelul rinichiului, intervenind în menținerea echilibrului hidroelectrolitic.

Desigur, în cele de mai sus au fost prezentate doar o parte dintre enzimele existente în celula vie. În continuare vom arăta modul cum cooperează aceste enzime în cadrul unor sisteme enzimatice răspunzătoare de dirijarea proceselor metabolice din organismele vii.

Sistemele enzimatice și structurile subcelulare

Marea majoritate a fenomenelor biochimice care au loc într-un organism viu și care constituie, în totalitatea lor, complexul reacțiilor metabolice și al schimbului de energie sînt reglate de către catalizatorii biologici, adică de enzime. Biochimia modernă încearcă să descifreze una dintre problemele cele mai importante rămasă pînă în prezent nerezolvată, și anume problema factorilor care coordonează și reglementează activitatea enzimelor în organism. Dacă obținem un amestec compus din toate enzimele care se găsesc într-o celulă, acțiunea lui catalitică nu va aminti nici pe departe fenomenele biochimice ce au loc în protoplasma vie. Așadar, enzimele nu pot acționa decît în interiorul celulei vii, unde reacțiile biochimice decurg în mod coordonat. Rezultă deci că celula vie nu este un simplu sac în care se aglomerează diferitele enzime, ci ea reprezintă un sistem cu o înaltă organizare, format dintr-un complex de structuri subcelulare vizibile, despre care s-a vorbit în prima parte a acestei lucrări.

Studiul organizării sistemelor enzimatice în celulă, precum și interdependența dintre enzime și diferitele structuri celulare, re-

Scanned with OKEN Scanner

prezintă un element important pentru înțelegerea proceselor metabolice.

Date cu privire la proprietățile enzimatice ale diferitelor componente celulare au fost obținute atît prin metode histochimice aplicate la studiul microscopic al secțiunilor de țesuturi, cît și prin metodele biochimice, cu ajutorul cărora s-au studiat preparatele realizate prin fracționarea omogenatelor de țesuturi.

Primele cercetări cu privire la proprietățile enzimatice ale componentelor celulei au fost inițiate în 1913 de către Warburg. Acest cercetător a studiat consumul de oxigen al omogenatului de ou de arici-de-mare și de ficat de mamifer, precum și cel al granulelor obținute prin sedimentare în urma centrifugării omogenatului acestor țesuturi și a constatat că granulele izolate absorb oxigenul mult mai repede decît omogenatele fără granule, adică omogenatele obținute după îndepărtarea granulelor. De aici el a tras concluzia că respirația tisulară este legată în primul rînd de activitatea granulelor citoplasmice. În anii următori au fost efectuate un număr considerabil de lucrări menite să lămurească legătura dintre localizarea intracelulară a diferitelor enzime și funcțiile catalitice ale acestora în sistemul general al metabolismului și al schimbului de energie intracelulară. Elucidarea acestei probleme și înțelegerea interacțiunii componenților structurali ai celulei în realizarea fenomenelor principale ale metabolismului permit pătrunderea mai adîncă în tainele vieții.

Pînă nu de mult s-a considerat că mitocondriile reprezintă în exclusivitate sediul reacțiilor aerobe producătoare de energie din celulă și că întregul sistem enzimatic care catalizează reacțiile ciclului citric este localizat în mitocondrii. În prezent s-a dovedit că o parte din enzimele esențiale ale acestui ciclu au fost găsite în alte structuri subcelulare, că numai două dintre enzimele ciclului citric sînt localizate exclusiv în mitocondrii.

La nivelul mitocondriilor se găsesc sistemele enzimatice care catalizează degradarea acizilor grași, oxidarea acidului succinic, oxidarea NADH și NADPH, ca și cele care produc fosforilarea oxidativă. De asemenea s-a demonstrat că sistemul enzimelor proteolitice, cu unele excepții, se găsește tot la nivelul mitocondriilor. Așadar, cele mai importante coenzime care intervin în procesele oxidoreductoare sînt larg răspîndite în mitocondrii.

În mod normal, mitocondriile conțin o mare cantitate de potasiu necesară desfășurării proceselor de fosforilare oxidativă. Tot în mitocondrii se află mult sodiu, magneziu și calciu.

Scanned with OKEN Scanner

În ceea ce privește lizozomii, ca și microzomii, aceste particule sînt strîns legate de procesele hidrolitice, ele conținînd o varietate mare de hidrolaze. În plus, microzomii înglobează cea mai mare cantitate de enzime oxidoreductoare ale sistemului citocromic. Experiențe cu atomi marcați au arătat că microzomii conțin sisteme enzimatice care intervin în biosinteza proteinelor, deși o parte dintre aceste enzime se găsesc în nucleul celular, probabil în ribozomii nucleari.

Dar enzimele nu se găsesc numai în particulele subcelulare, ci și în mediul solubil nestructurat al plasmei celulare. Astfel, enzimele care catalizează degradarea glicogenului (glicoliza), cele care participă la sinteza glutaminei, argininei și a FAD sînt larg răspîndite în mediul solubil nestructurat al plasmei celulare.

Nucleul celular conține și el enzime, însă în număr și cantități foarte mici. Aldolaza se găsește mai ales în nucleol, iar arginaza și catalaza în interiorul nucleului, în timp ce formațiile cromozomiale sînt bogate în fosfatază alcalină.

Cînd o enzimă există în mai multe fracțiuni, acțiunea ei catalitică și condițiile catalizei diferă în raport cu fracțiunea în care se găsește. Așa, de exemplu, în raport cu particula subcelulară în care se găsește, β-glucuronidaza este activă la pH-uri diferite, fosfataza alcalină este activată de ioni metalici diferiți, citocromreductaza și izocitricdehidrogenaza au acceptori de electroni diferiți, iar nucleotidpirofosfataza manifestă specificitate diferită în raport cu tipul particulei subcelulare în care se găsește. Localizarea aceloraşi enzime în structuri celulare deosebite diferă de la țesut la țesut și de la o specie la alta. Studiile efectuate pe ficatul de rozătoare au arătat, de pildă, că în sistemul enzimatic succinatcitocromoxidaza se găsește întotdeauna în mitocondrii, în timp ce alte enzime, ca tiosulfattranssulfuraza și adenilatkinaza, care în ficat se găsesc predominent în mitocondrii, în țesutul muscular lipsesc complet din aceste formații, fiind prezente în special în mediu solubil citoplasmatic. În părțile verzi ale plantelor, clorofila, ca și sistemele enzimatice care catalizează procesele de fotosinteză, sînt localizate la nivelul cloroplastelor împreună cu doi citocromi, și anume cu citocromul b_6 și f, care participă la fotosinteză. S-a constatat că celulele vegetale conțin mitocondrii care, în linii mari, seamănă din punct de vedere morfologic și al echipamentului enzimatic cu mitocondriile din celulele animale, care conțin citocromii a, a_3, b, c și c_1. De asemenea, microzomii din celulele vegetale se aseamănă cu cei din țesuturile animale în ceea

Scanned with OKEN Scanner

ce privește compoziția chimică și echipamentul enzimatic. Într-adevăr, din drojdia de bere s-au izolat niște particule sferice cu diametrul de 200—300 mμ , capabile să catalizeze o mare parte din reacțiile ciclului citric. Aceste particule pot fi considerate ca echivalenți ai mitocondriilor de la plante și animale.

Celulele bacteriene diferă într-o oarecare măsură de cele care alcătuiesc organismele superioare în special prin absența structurilor membranoase din interiorul celulei și deci prin repartiția diferită a sistemelor enzimatice în diferitele porțiuni celulare. Comparîndu-se între ele diversele tipuri de celule, s-a constatat o remarcabilă similitudine a sistemelor enzimatice pe care acestea le conțin, ceea ce înseamnă că procesele metabolice de bază ale organismelor vii sînt asemănătoare. Astfel, sistemul enzimatic care guvernează reacțiile metabolismului hidraților de carbon, cu foarte mici diferențe, stă la baza mecanismelor de producere a energiei la animale, plante, ciuperci, drojdie de bere și multe alte microorganisme. Desigur, între metabolismul, compoziția chimică și structura diferitelor țesuturi și a diferitelor organisme există deosebiri indubitabile, care se reflectă în diferențele dintre sistemele enzimatice ale diferitelor țesuturi și organisme. Diferențele de compoziție chimică sînt rezultatul anumitor sisteme enzimatice prezente în celulă, și în special a celor cu rol biosintetic, care se află sub un strict control genetic.

Structurile și formele pe care le îmbracă celulele, țesuturile și organismele sînt controlate de aparatul genetic prin intermediul biosintezei enzimelor, care, așa cum s-a mai arătat, se formează tot sub controlul genetic.

Între animale, plante și bacterii există diferențe foarte mari în ceea ce privește echipamentul enzimatic. Din punct de vedere metabolic, la animale se constată o anumită standardizare, pe cînd plantele, ciupercile și într-o oarecare măsură bacteriile sintetizează în plus anumiți produși metabolici, ca, de exemplu, diferiți pigmenți, alcaloizi și alți compuși heterociclici. Mulți din compușii heterociclici sînt sintetizați numai de una sau două specii. Biochimia modernă n-a reușit să identifice încă toate sistemele enzimatice implicate în biosinteza unor astfel de compuși.

Studiindu-se comparativ echipamentul enzimatic al diferitelor țesuturi, s-au constatat diferențe destul de mari atît între diferitele țesuturi, cît și între specii. Astfel, un număr important de enzime, ca, de exemplu, D-aminoacidoxidaza, xantinoxidaza și catalaza, se găsesc cu precădere în ficat și rinichi, lipsind aproape

Scanned with OKEN Scanner

complet din țesutul muscular. Dintre aceste enzime, unele sînt mai active în ficat, iar altele în rinichi. Pe de altă parte, transaminaza glutamicoxalacetică este mult mai activă în mușchiul cardiac decît în rinichi, iar glutaminsintetaza se găsește în cantități mai mari în țesutul cerebral decît în cel hepatic. Alte enzime, ca, de pildă, oxalattransacetaza și aldolaza, predomină în țesutul muscular, activitatea acestora în ficat și rinichi fiind foarte redusă.

Anumite enzime manifestă o activitate catalitică crescută în raport cu anumite organe în care se găsesc. Astfel, fosfataza alcalină are o activitate mai intensă în mucoasa intestinală decît în alte țesuturi. Același lucru se poate spune despre fosfataza acidă din rinichi, splină și prostată, despre 5-nucleotidaza din testiculi, ribonucleaza din pancreas, acetilcolinesteraza și glutaminsintetaza din creier, colinesteraza și anhidraza carbonică din sînge. Evident, aceste diferențe de activitate enzimatică după organul considerat sînt strîns legate de particularitățile metabolice ale acestor organe.

Deși pînă în prezent studiile privind diferențele enzimatice dintre specii sînt încă insuficiente pentru a se trage concluzii generalizatoare, există totuși unele fapte bine stabilite care arată că între diferitele specii se observă diferențe enzimatice. Astfel, prezența unor enzime pare să se limiteze la anumite specii, ca, de exemplu, histidindecarboxilaza, care se găsește în rinichii iepurelui și ai cobaiului și care lipsește în rinichii de om, cal, bou, oaie, cîine și pisică. Un alt exemplu îl constituie arginaza. Astăzi este un fapt bine cunoscut că această enzimă, care joacă un rol important în formarea ureei, se găsește în ficatul animalelor care excretă uree și lipsește din ficatul animalelor care excretă acid uric. Mai mult, la unele specii de pești care sintetizează ureea nu numai în ficat, ci și în alte țesuturi, arginaza este prezentă aproape în toate țesuturile. De asemenea, uratoxidaza, o altă enzimă care intervine în metabolismul azotat, se întîlnește la majoritatea mamiferelor și lipsește la păsări. Ca urmare a acestui fapt, produsul ultim de degradare a compușilor azotați din metabolismul purinelor este la primate acidul uric, la alte mamifere alantoina, iar păsările produc acidul uric ca ultim compus care apare în degradarea substanțelor azotate. Diferențe de compoziție enzimatică care determină deosebiri metabolice se întîlnesc și la speciile de microorganisme, ele fiind folosite de către bacteriologi la identificarea și la clasificarea bacteriilor.

Scanned with OKEN Scanner

Creșterea și dezvoltarea organismelor sînt procese vitale strîns legate de activitatea enzimatică. Sistemele enzimatice apar treptat în cursul dezvoltării organismului, modificîndu-se și complicîndu-se o dată cu vîrsta. O parte dintre enzime lipsesc sau sînt indetectabile la embrion, apărînd aproape brusc la o anumită vîrstă a organismului. Astfel, xantinoxidaza lipsește complet la embrionul de găină pînă în a 15-a zi de incubație, cînd poate fi pusă în evidență în rinichi. Aceeași enzimă, lipsind din ficat pînă în a 21-a zi, apare brusc o dată cu ecloziunea. La începutul dezvoltării embrionului, formațiile mitocondriale din diferitele celule lipsesc, de aceea în acest stadiu o parte din enzimele care se găsesc în mod obișnuit în aceste formații subcelulare sînt absente, o altă parte sînt prezente în particulele mici, iar altă parte în soluții. O dată cu apariția mitocondriilor, care are loc îndeosebi în ultima parte a stadiului de blastulă, se produc modificări metabolice foarte importante, însoțite și de modificări enzimatice. Studii efectuate asupra embrionilor de găină au arătat că mitocondriile conțin, în a cincea zi de dezvoltare, enzimele necesare metabolismului glucidic, dar nu au enzimele necesare oxidării acizilor grași, care încep să apară abia în a 17-a zi și care reușesc să catalizeze degradarea completă a acizilor grași abia după 14 zile de la ieșirea puilor din găoace.

Problema relațiilor dintre aparatul genetic răspunzător de biosinteza proteică și apariția unor metaboliți nu este pe deplin elucidată. În cazul colinesterazei, de pildă, s-a considerat că enzima apare ca un răspuns la formarea de acetilcolină la nivelul teminațiilor nervoase. Cu alte cuvinte, enzimele ar lua naștere după apariția substratului pe care-l catalizează. Într-adevăr, s-a dovedit pe calea experimentală că, dacă se injectează adenozină în gălbenușul de ou, apariția adenozindezaminazei — care în mod normal nu este prezentă în ficatul puiului de găină decît după două-trei zile de la ieșirea lui din găoace — are loc cu trei-cinci zile înainte de ieșirea puiului. Desigur, aceste fapte experimentale nu pot explica în totalitate relația menționată mai sus, întrucît apariția unei enzime într-un țesut ar implica producerea substratului corespunzător în acest țesut, ceea ce ar însemna preexistența enzimei care să catalizeze apariția acestui substrat.

După această succintă incursiune referitoare la distribuția diferitelor enzime în natura vie, să vedem în ce constă importanța enzimelor, a sistemelor enzimatice pentru viață. Așa cum am văzut, enzimele sînt proteine care joacă rolul de catalizatori biologici,

Scanned with OKEN Scanner

accelerînd reacțiile chimice care se petrec în organismul viu și care formează în ansamblu metabolismul unic al acestuia. De asemenea s-a subliniat faptul că enzimele sînt strict specifice, ele catalizînd numai anumite reacții din ansamblul proceselor biochimice ale metabolismului. În felul acesta, numărul enzimelor existente în natura vie se apropie de numărul reacțiilor care constituie treptele succesive ale metabolismului general sau parțial. Privit în ansamblul său, metabolismul este condiționat deci de un sistem format dintr-un număr foarte mare de enzime, care acționează în mod armonic, coordonat, strîns legate între ele.

Deși metabolismul unui organism este unic, reacțiile chimice care-l alcătuiesc fiind strîns legate una de alta, succedîndu-se într-o ordine strictă și mereu aceeași, se vorbește în mod curent de metabolismul parțial al unor substanțe sau al unor categorii de substanțe, ca, de exemplu, metabolismul proteic, glucidic, lipidic, al apei, mineral, metabolismul ureei, al amoniacului și altele. Fiecare din aceste metabolisme este condiționat de sisteme enzimatice proprii, care în totalitatea lor formează marele sistem polienzimatic al organismului în întregime.

Sistemele enzimatice care guvernează metabolismele parțiale sînt formate dintr-un număr determinat de enzime, a căror specificitate strictă formează un lanț neîntrerupt, concordant cu lanțul reacțiilor biochimice care alcătuiesc aceste metabolisme. Într-un astfel de sistem enzimatic, compusul care se formează sub acțiunea unei enzime specifice intră în domeniul specificității unor alte enzime prezente în cadrul sistemului. În felul acesta, moleculele unui substrat sînt influențate succesiv, într-o ordine strictă, de către toate enzimele sistemului, fiecare enzimă producînd anumite modificări în structura moleculară a substratului, înainte ca acesta să treacă mai departe sub influența altei enzime, pînă ce întregul lanț de reacții ce formează metabolismul este desăvîrșit. Enzimele specifice sînt dispuse în sistemul enzimatic dat într-o ordine strictă, formînd un lanț complet și neîntrerupt. Dacă numai una dintre enzimele care alcătuiesc sistemul lipsește sau este distrusă, lanțul de reacții biochimice se blochează în locul în care lipsește enzima și întregul sistem devine inoperant.

Formarea enzimelor care alcătuiesc un sistem enzimatic dat se află sub controlul aparatului genetic celular, care reglează în mod adaptiv biosinteza și eliberarea enzimelor necesare reacțiilor biochimice. Aparatul genetic controlează astfel, prin intermediul sistemelor enzimatice, toate procesele metabolice, deoarece trans-

Scanned with OKEN Scanner

formarea oricărei substanțe organice la nivel celular depinde nu atît de proprietățile sale chimice, cît mai ales de prezența și de cantitățile enzimelor catalizatoare.

În cadrul multor sisteme enzimatice, organizarea și coordonarea armonioasă a reacțiilor metabolice nu este strict legată de anumite structuri celulare, ci depinde îndeosebi de specificitatea enzimatică, întrucît, așa cum s-a arătat mai sus, datorită acestei specificități, un compus format prin activitatea catalitică a unei enzime cade în raza specificității unei alte enzime prezentă în sistem, care este capabilă să ducă mai departe transformarea substratului pînă la termenii considerați finali.

Într-un sistem enzimatic, fiecare enzimă este strîns legată de următoarea prin intermediul unui substrat comun. Mai mult, o enzimă poate cataliza o reacție metabolică în ambele sensuri, așa încît compusul format în reacția antecedentă poate constitui substratul unei enzime dintr-o reacție precedentă. Astfel, dacă luăm următorul sistem de reacții succesive :

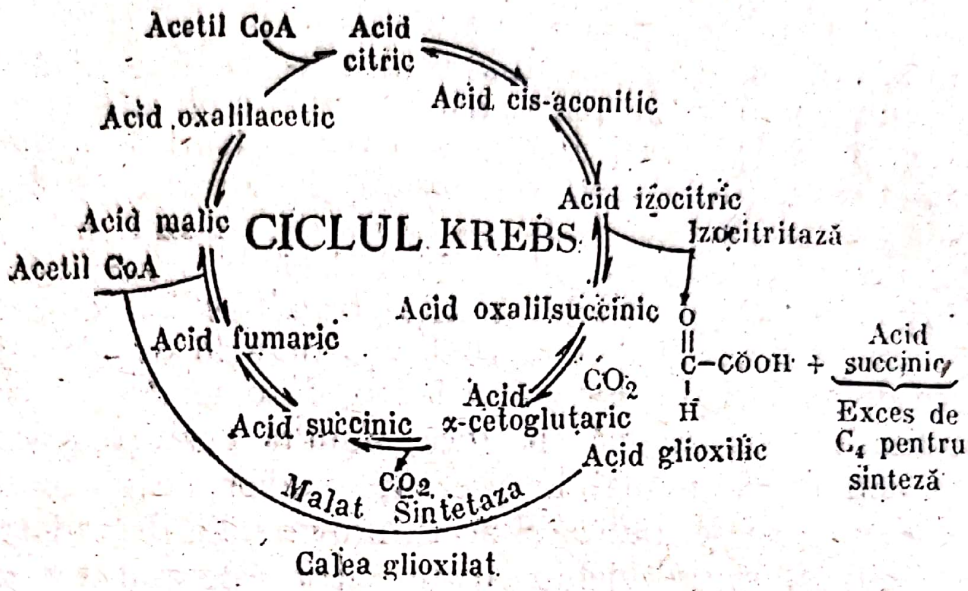
$$A \xrightarrow[E_1]{} B \xrightarrow[E_2]{} C \xrightarrow[E_3]{} D\ldots,$$

constatăm că substanța B, care reprezintă substratul asupra căruia acționează enzima E_2, poate fi considerată în același timp ca substratul enzimei E_1, deoarece intră în domeniul specificității acestei enzime. Prin urmare, enzimele E_1 și E_2 sînt strîns legate între ele prin intermediul substratului comun B. În cazul cînd aceste două enzime nu au un substrat comun, ele nu pot fi legate una de alta nici în cadrul unui sistem enzimatic.

Printre sistemele enzimatice existente în natura vie menționăm : sistemul enzimatic al glicolizei, al ciclului acizilor tricarboxilici, al degradărilor acizilor grași ; sistemul transportor de hidrogen la plante ; oxidarea catecolilor la bacterii și a fenilalaninei la animale ; sinteza glicogenului, a fosfatidelor și a nucleotizilor ; sistemul enzimatic al formării ureei etc.

Să luăm ca exemplu unul dintre sistemele enzimatice enumerate și să urmărim modul cum sînt legate între ele diferitele enzime care îl alcătuiesc. În sistemul chimic al metabolismului celular, locul central îl ocupă ciclul acizilor organici di- și tricarboxilici, cunoscut și sub numele de ciclul acidului citric sau ciclul lui Krebs. (fig. 41). După Braunstein, poziția centrală a acestui sistem în

Scanned with OKEN Scanner



41. Schema interrelației ciclului acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs) cu ciclul „glioxilat"

metabolismul celular și tisular își găsește o confirmare în rolul pe care îl au componenții acestuia în transportul hidrogenului, în fosforilarea oxidativă, în sinteza și descompunerea aminoacizilor, precum și în formarea glucidelor, în fixarea și eliberarea bioxidului de carbon și amoniacului, în sinteza substanțelor azotate specifice pentru celule și ale produselor finite ale metabolismului azotat. Acest sistem reprezintă veriga principală a fenomenelor chimice în decursul metabolismului substanțelor azotate și neazotate și mai ales în sistemul primordial de integrare și de interdependență al metabolismului. Într-adevăr, prin ciclul acizilor tricarboxilici trec atît glucidele, cît și acizii grași și aminoacizii, suferind transformările finale. Pe de altă parte, datorită faptului că multe dintre aceste reacții sînt reversibile, sinteza acestor tipuri de compuși este legată tot de ciclul acizilor tricarboxilici. De aceea prezentarea sistemului enzimatic al ciclului acizilor tricarboxilici, localizarea în structurile celulare a numeroaselor enzime care catalizează reacțiile acestuia arată importanța sistemelor enzimatice pentru viață.

Ciclul acizilor tricarboxilici este constituit dintr-o succesiune de reacții catalizate de enzime specifice (decarboxilări, oxidoreduceri, hidratări), reacții în cursul cărora energia eliberată în procesele oxidative este depozitată, într-o formă direct și imediat accesibilă, în legăturile macroergice ale moleculei de ATP. Ciclul aci-

zilor tricarboxilici, prin numărul mare de molecule de ATP pe care le sintetizează, constituie principala sursă energetică a organismelor vii. Așa, de pildă, dacă dintr-o moleculă de glucoză iau naștere prin degradare anaerobă patru legături de fosfat puternic energetice, din care două se consumă în cursul reacțiilor prin degradarea aerobă a aceleiași molecule de glucoză, prin ciclul acizilor tricarboxilici iau naștere 38 de legături macroergice.

Prima reacție din ciclul acizilor tricarboxilici constă în transferul grupării acetil-CoA pe molecula de acid oxalilacetic, cu formare de acid citric. Este vorba deci de o reacție de condensare, catalizată de o enzimă specifică, numită enzimă de condensare, care acționează numai în prezența ionilor de magneziu (Mg^{++}). După cum se știe, radicalul acetil provine din degradarea glucidelor, lipidelor și protidelor. Acidul citric este transformat apoi în acid izocitric prin acțiunea catalitică a aconitazei, reacția fiind însoțită de pierderea unei molecule de apă. Ulterior, acidul izocitric este transformat, printr-o reacție de dehidrogenare catalizată de izocitricdehidrogenază, în acid oxalosuccinic, care este apoi decarboxilat și transformat în acid α-cetoglutaric. Decarboxilarea acidului oxalosuccinic este catalizată de o enzimă specifică, numită oxalosuccindehidrogenază. Mai departe, acidul α-cetoglutaric este oxidat printr-un mecanism foarte asemănător cu cel de oxidare a acidului piruvic, produsul de oxidare fiind acidul succinic. Acest proces de oxidare are loc sub influența α-cetoglutaratdehidrogenazei și a unor cofactori : tiaminpirofosfatul (TPP), acidul lipoic, CoA, nicotinamiddinucleotidul, nicotinamiddinucleotidfosfatul, acidul adenozindifosforic, acidul guanozindifosforic și acidul fosforic. Acidul succinic este transformat ulterior în acid fumaric sub acțiunea sistemului enzimatic al succinatoxidazei, în care intră succindehidrogenaza și citocromii *b*, *c* și a_3. Sub acțiunea fumarazei, acidul fumaric trece în acid malic, iar acesta este transformat, la rîndul său, de către malicodehidrogenază în acid oxalacetic. Cu această din urmă reacție se încheie o turație completă a ciclului acizilor tricarboxilici, din care rezultă bioxid de carbon (CO_2), apă (H_2O) și acid oxalacetic, care poate accepta din nou restul acetil ($CH_3—CO$), intrînd astfel într-o nouă turație. În timpul fiecărui ciclu se degajează energie, care este acumulată în molecula de ATP.

Scanned with OKEN Scanner

Nenumărate studii consacrate sistemului enzimatic al ciclului acizilor tricarboxilici au demonstrat că mitocondriile celulelor din diferitele țesuturi conțin toate enzimele necesare pentru efectuarea reacțiilor acestui ciclu. În mitocondrii se găsește enzima de condensare care sintetizează acidul citric din acid oxalacetic și acetil-CoA, care, la rîndul ei, se formează tot în mitocondrii. De asemenea, studii efectuate pe omogenatele de țesut cerebral, hepatic etc. au arătat că mitocondriile conțin aconitază. Izocitricdehidrogenaza, ca și α-cetoglutaricdehidrogenaza, a fost pusă în evidență în mitocondriile din celulele hepatice, renale și nervoase. Studii histochimice au arătat că succindehidrogenaza se găsește în mitocondriile multor țesuturi, ca ficat, rinichi, mușchi, glande mamare, hipofiză, tumori etc. Fumaraza a fost pusă în evidență nu numai în mitocondrii, ci și în microzomii din ficatul de șobolan, în creier etc. De asemenea, mitocondriile conțin o cantitate considerabilă de malicodehidrogenază. Așadar, sistemul enzimatic care catalizează transformările din ciclul acizilor tricarboxilici se găsește în cea mai mare parte în mitocondrii. Prin urmare, mitocondriile sînt structurile subcelulare care determină desfășurarea întregului complex de reacții ale ciclului acizilor tricarboxilici, deținînd o poziție centrală în metabolismul bazal al celulei. Prin intermediul ciclului acizilor tricarboxilici, mitocondriile celulare cuplează oxidarea metaboliților rezultați din degradarea glucidelor, lipidelor și protidelor cu fenomenele respirației celulare și cu sinteza ATP. Într-adevăr, majoritatea energiei acumulată în restul acetil este transferată moleculelor de ATP. În mitocondrii, oxidarea totală a unui rest acetil pe calea ciclului acizilor tricarboxilici se soldează cu formarea a 12 molecule de ATP. În concluzie, ciclul acizilor tricarboxilici reprezintă calea prin care majoritatea fragmentelor terminale rezultate din metabolizarea glucidelor, lipidelor și protidelor (aminoacizilor) sînt oxidate pînă la CO_2 și H_2O.

Activitatea catalitică a enzimelor stă la baza mecanismului prin care energia liberă rezultată din reacțiile chimice de oxidare a substanțelor nutritive din mediul exterior și a celor din mediul interior este folosită de către materia vie pentru alte reacții chimice necesare. Enzimele sînt acelea care fac ca energia eliberată de substanțele nutritive în procesul de oxidare să nu se piardă sub formă de căldură, ci să fie folosită de organism în diferite procese care stau la baza vieții.

Scanned with OKEN Scanner

Așa cum vom vedea în capitolul următor, în care vom trata mai pe larg despre metabolismul proteinelor, substanțele extrem de complexe care intră în constituția organismelor vii sînt în permanență descompuse și refăcute datorită sistemelor enzimatice specifice care prin activitatea lor aprovizionează în permanență celula cu energie. Dacă aportul de energie este oprit în mod brusc, procesul de descompunere a substanțelor care alcătuiesc materia vie predomină asupra celor de sinteză, ceea ce duce la moartea celulei.

Scanned with OKEN Scanner

3

Proteinele și bazele moleculare ale nutriției, autoreproducerii și ereditățiI

Metabolismul, baza vieții

Materialismul dialectic concepe viața ca o formă specială de mișcare a materiei, de existență a corpurilor proteice, a cărei particularitate caracteristică este schimbul de substanțe cu natura înconjurătoare. Prin metabolism se înțelege totalitatea schimburilor pe care organismele vii le întreține cu mediul înconjurător. Metabolismul reprezintă proprietatea fundamentală a materiei vii, indiferent de treapta de organizare pe care aceasta se află, de forma pe care o îmbracă, constituind unul dintre caracterele care deosebesc lumea vie de cea lipsită de viață. Prin însăși esența sa, metabolismul este un proces unic, dar cu două laturi principale contradictorii : asimilația și dezasimilația, care sînt cauza automișcării materiei vii. Schimburile pe care organismul le întreține cu mediul de viață sînt bilaterale.

Prin procesul de *asimilare*, sau de *anabolism*, organismul viu ia din mediul înconjurător elementele necesare pentru întreținerea proceselor vitale, ca apă, substanțe nutritive (hrană, oxigen etc.), pe care le transformă în scopul procurării energiei și al sporirii sau înlocuirii propriei mase.

Prin procesul de *dezasimilare*, sau de *catabolism*, organismul eliberează în mediul înconjurător elementele rezultate din uzura continuă a materiei vii și din reacțiile producătoare de energie. În felul acesta, asimilarea și dezasimilarea — anabolismul și catabolismul — apar ca două laturi contradictorii ale metabolismului.

Științele naturii au demonstrat pe deplin că viața este posibilă numai dacă între organismul viu și mediul său înconjurător există un schimb continuu de substanță, fie că este vorba de organisme

Scanned with OKEN Scanner

superior organizate (animale, om), fie că este vorba de organisme unicelulare. Pentru ca viața să se manifeste trebuie ca din mediul exterior să pătrundă în organismul viu substanțe capabile să asigure desfășurarea normală a proceselor vitale, iar din organism să se elimine în exterior substanțele care nu mai sînt necesare acestuia. În momentul în care schimbul de substanțe încetează, se produce moartea.

După Engels, metabolismul reprezintă funcția esențială a proteinelor, iar din plasticitatea caracteristică a acestor substanțe decurg toți factorii vieții. Subliniind caracterul dialectic al procesului de metabolism, el arată că „Planta, animalul, fiecare celulă sînt, în orice clipă a vieții lor, identice cu sine și totuși se diferențiază de sine prin asimilația și excreția de substanțe, respirație, prin formarea de celule și prin moartea unor celule, prin procesul de circulație, pe scurt prin ansamblul de modificări moleculare continue care constituie viața și ale căror rezultate însumate se manifestă evidente în fazele vieții..."[1].

Examinînd legătura și condiționarea reciprocă a diferitelor forme de mișcare a materiei, Engels arată că... „organismul este, firește, *unitatea mai înaltă, care înglobează într-un singur tot mecanica, fizica și chimia*, în care această trinitate nu mai este separabilă. În organism, mișcarea mecanică este generată direct de transformări fizice și chimice, și anume de nutriție, respirație, secreție etc., tot atît cît și de mișcarea pur musculară"[2]. În organism, nutriția, respirația, excreția, mișcarea mecanică și musculară sînt determinate de modificări fizice și chimice, cu alte cuvinte toate funcțiile organismului sînt condiționate de procesele metabolice.

Din schimbul de substanțe dintre organism și mediu, care reprezintă funcția cea mai importantă a corpurilor proteice, decurg toate manifestările vieții, de la cele mai simple la cele mai complexe. Unitatea dintre lumea vie și cea nevie, dintre organismele vii și natura anorganică se realizează tocmai prin intermediul schimbului de substanțe. Această teză este confirmată în modul cel mai sugestiv de circuitul carbonului, azotului și sulfului în natură. În procesul de fotosinteză, plantele realizează cu ajutorul luminii solare compuși ai carbonului din bioxidul de carbon atmosferic. În organismele animale, prin procesul de dezasimilație,

---

[1] F. Engels, *Dialectica naturii*, în K. Marx și F. Engels, *Opere*, vol. 20, Editura Politică, București, 1959, p. 512.
[2] *Ibidem*, p. 547.

Scanned with OKEN Scanner

acești compuși ai carbonului sînt degradați și eliminați pe diferite căi. Actul final al circuitului carbonului este realizat de microorganisme, care transformă în bioxid de carbon toate substanțele ce conțin carbon. Atmosfera este în permanență alimentată cu bioxid de carbon prin procesul respirației, al descompunerii, al putrefacției, al degradării substanțelor organice, al descompunerii carbonaților din roci etc. Azotul atmosferic, datorită fixării lui biologice și a oxidării electrochimice, devine accesibil asimilării de către plante. Amoniacul și acidul azotic din sol suferă, în cursul activității biologice a unor bacterii, transformări profunde, putînd fi apoi asimilați de către plantele superioare, care sintetizează din ei aminoacizii necesari. Intervin apoi bacteriile și ciupercile, care descompun aminoacizii în amoniac și uree. Ajungînd în corpul animalelor o dată cu hrana, aminoacizii și proteinele sintetizate de către organismele vegetale suferă diferite transformări, produșii finali — sub formă de uree și acid uric, alantoină, amoniac — fiind eliminați în mediul înconjurător, unde sînt supuși acțiunii microorganismelor. După moartea animalelor și a plantelor, compușii azotați acumulați în țesuturile lor sînt descompuși pînă la amoniac și azot liber.

Acest exemplu demonstrează o dată în plus că metabolismul este baza unității dintre organismele vii și natura anorganică. Organismele vii, care nu sînt altceva decît o formă specială de mișcare a materiei, reprezintă un produs al dezvoltării geochimice a scoarței terestre. La rîndul lor, aceste organisme joacă un rol însemnat în toate procesele geochimice, influențînd totodată formarea speciilor, a solului, migrarea și acumularea elementelor chimice, schimbarea compoziției atmosferei și hidrosferei etc.

Studiind legile metabolismului, științele naturii au demonstrat unitatea și caracterul comun al căilor de transformare a materiei vii în organismele vegetale și animale. Totuși, între procesul asimilației și dezasimilației la plante și la animale există unele deosebiri. Astfel, organismul vegetal este autotrof, adică poate să-și sintetizeze singur componentele necesare, folosind diferite substanțe anorganice. Compoziția chimică a plantelor este mult mai variată și incomparabil mai bogată decît aceea a animalelor. Acestea din urmă, precum și marea majoritate a bacteriilor, sînt heterotrofe, deci ele își sintetizează substanțele organice proprii nu din combinații anorganice, ci din substanțele organice primite sub formă de hrană. Proteinele, amidonul, grăsimile, substanțele alimentare cu structură complexă sînt descompuse în cursul di-

Scanned with OKEN Scanner

gestiei în componenți mai simpli pentru a fi asimilați de organism, unde sînt transformați în substanțe proprii. Compoziția chimică a organismelor animale este mai puțin diferențiată în comparație cu cea a plantelor. În schimb, în organismul animal, manifestarea funcțiilor vitale este mult mai bogată și mai variată decît la plante. De asemenea, vitezele diverselor reacții biochimice sînt cu mult mai mari în organismul animal decît în cel vegetal.

Desigur, împărțirea organismelor în autotrofe și heterotrofe este, într-o anumită măsură, artificială, deoarece atît la plante, cît și la animale există unele trăsături ale ambelor tipuri de nutriție. Astfel, în ceea ce privește degradarea substanțelor, deosebirile dintre animale și plante sînt mult mai atenuate. De pildă, procesele de degradare oxidativă a hidraților de carbon au loc prin mecanisme asemănătoare în întreaga natură vie.

Asimilarea hranei, înglobarea constituenților chimici ai acesteia în circuitul transformărilor biochimice, utilizarea acestor părți componente și eliminarea compușilor neutilizați care apar în procesul de dezasimilație sînt verigi concrete prin intermediul cărora se realizează unitatea dintre mediul intern și extern, dintre organism și mediu. Particularitatea cea mai importantă a metabolismului este unitatea dintre procesele contradictorii : oxidare și reducere, biosinteză și degradare, asimilare și dezasimilare. Această unitate dialectică este sursa automișcării materiei vii care stă la baza dezvoltării sale.

Metabolismul este strîns legat de schimbul și de transformarea energiei. După cum se știe, toate reacțiile biochimice sînt însoțite de consum sau de eliberare de energie. Reacțiile de descompunere a substanțelor complexe în substanțe mai simple sînt însoțite de obicei de o scădere a energiei libere a substanței care se transformă. Un efect energetic deosebit de important îl au reacțiile oxidoreductoare, care reprezintă principala sursă de energie în organismul animal. În timp ce reacțiile de descompunere sînt însoțite de eliberare de energie, reacțiile de sinteză consumă energie. De aceea, potrivit principiilor termodinamicii, care se aplică și la fenomenele naturii vii, reacțiile de biosinteză pot avea loc numai cu condiția utilizării energiei libere, pusă în libertate și însoțită de alte procese biochimice. Legătura strînsă dintre diferitele reacții care au loc în celula vie este determinată nu numai de caracterul acestor reacții, de natura chimică a substanțelor care se formează, ci și de cuplarea energetică a acestor reacții. Ca atare, orice intensificare a proceselor de sinteză biochimică în organismele vii, pentru

Scanned with OKEN Scanner

care este necesară energia liberă, trebuie să aibă la bază în mod inevitabil o intensificare a proceselor de degradare a substanțelor care furnizează energia necesară realizării acestor biosinteze.

Energetica materiei vii se bazează pe trei principii fundamentale care o deosebesc de energetica corpurilor lipsite de viață. Prima particularitate constă în transformarea energiei chimice direct în travaliu mecanic și în alte forme de energie (electrică, osmotică etc.). Această particularitate face ca în organismul viu, de pildă, în mușchi, energia din ATP să fie folosită cu randament care depășește 50%. A doua particularitate a energeticii metabolismului biologic constă în aceea că degajarea energiei în cursul proceselor de oxidare nu se face dintr-o dată în cantitate mare, ci treptat și în cantități mici. Astfel, în urma oxidării unei molecule-gram de glucoză se degajează aproximativ 700 kcal. Dacă molecula de glucoză s-ar oxida instantaneu pînă la bioxid de carbon și apă, așa cum se întîmplă în reacția de degradare a nitrocelulozei, ar avea loc un fenomen asemănător cu o explozie și evident că organismul viu nu ar fi capabil să folosească dintr-o dată o cantitate atît de mare de energie și s-ar distruge. De aceea, în procesul oxidării biologice, molecula de glucoză, ca și alte substanțe energetice, nu se oxidează instantaneu, așa cum se întîmplă cu un exploziv, ci arde treptat într-un lanț lung de procese succesive, pînă ce toți atomii de hidrogen și carbon ai moleculei de glucoză se transformă în produși finali de oxidare, adică în CO_2 și H_2O. Eliberarea energiei este un mecanism deosebit de complex, în cadrul căruia ciclul acizilor tricarboxilici deține un rol-cheie. În cursul reacțiilor acestui ciclu se eliberează hidrogenul, care se unește apoi cu oxigenul, formînd apă. Toate reacțiile în care se eliberează hidrogenul sînt însoțite de degajare de energie. Energia legăturilor C—C și C—H din moleculele care se oxidează în ciclul acizilor tricarboxilici este transferată, o dată cu protonii (H^+), spre oxigen, datorită intervenției unui sistem enzimatic transportor de hidrogen, din care fac parte dehidrogenazele specifice, coenzima Q și citocromii. Așadar, oxidarea biologică se caracterizează prin faptul că hidrogenul eliberat de substanța care se oxidează nu se combină imediat cu oxigenul, degajînd întreaga sa rezervă de energie chimică, ci parcurge un sistem de transportori de hidrogeni intermediari de la un compus la altul. Cedînd electronul său, hidrogenul trece în formă ionică. Pe fiecare treaptă a transformărilor intermediare, hidrogenul eliberează o parte din rezerva sa inițială de energie.

Scanned with OKEN Scanner

În sfîrșit, a treia particularitate caracteristică reacțiilor chimice metabolice constă în transformarea diferitelor surse de energie (glucide, lipide, protide) într-o sursă de energie de tip deosebit, care este reprezentată de așa-numiții compuși macroergici, adică bogați în energie. Energia liberă se acumulează în compuși fosfo-organici, și îndeosebi în acidul adenozintrifosforic. În cursul reacțiilor metabolice, acești compuși macroergici se formează fie prin activarea acizilor corespunzători (acetic și succinic), pe seama legăturilor macroergice ale acidului adenozintrifosforic, fie pe cale directă, pe seama energiei de oxidare a surselor primare de energie (glucide, lipide, protide).

Participarea acestor acumulatoare de energie la un număr mare de reacții de metabolism asigură transferul energiei chimice de la reacțiile însoțite de degajare de energie (exoergonice) la reacțiile care consumă energie (endoergonice). În acest fel, combinațiile macroergice stabilesc legătura intimă dintre latura chimică și cea energetică a procesului unic de metabolism. Prin hidroliza combinațiilor macroergice ale ATP se eliberează aproximativ 9—16 kcal de energie pentru fiecare moleculă-gram de acid fosforic scindată. Această energie este utilizată de organismul viu nu numai pentru diferite activități funcționale, ci și pentru biosinteza altor compuși care intră în constituția materiei vii.

Baza tuturor sintezelor biochimice de pe Pămînt o constituie formarea substanțelor organice de către plantele verzi în cursul fotosintezei. Cercetările din ultima vreme cu atomi marcați au arătat că produșii direcți ai fotosintezei în plantele verzi sînt nu numai hidrații de carbon, ci și proteinele. Compoziția calitativă și cantitativă a compușilor de fotosinteză variază foarte mult în raport cu particularitățile fiziologice ale plantei, cu condițiile nutriției radiculare și cu alți factori ai mediului înconjurător. Sensul procesului de fotosinteză către proteine sau hidrați de carbon este determinat în mare măsură de compoziția spectrală a luminii. Astfel, la lumina roșie-galbenă se sintetizează mai ales hidrații de carbon, iar la cea albastră îndeosebi proteinele. Rolul plastidelor în procesul de fotosinteză a fost dovedit de către cercetările lui Timireazev, care considera grăuntele de clorofilă ca acel punct al spațiului universului în care are loc transformarea substanței anorganice în substanță organică, transformarea energiei solare în energie chimică. Funcția plastidelor verzi este asigurată de diversitatea sistemelor enzimatice incluse în ele. Particularitatea caracteristică a reacției de fotosinteză constă în utilizarea în mod eficace a luminii absor-

Scanned with OKEN Scanner

bite de către pigmenții plantelor. Cuantele de lumină vizibilă sau infraroșie absorbite de clorofilă se transformă în anumite condiții în energie chimică potențială, înmagazinată în substanțele organice sintetizate (glucide, protide, lipide).

Principalele canale prin care se revarsă în lumea vie fluxul de energie acumulată în procesul de fotosinteză din moleculele substanțelor organice sînt constituite din activitatea proteinelor-fermenți și respirația celulară. Acestea furnizează energia necesară creșterii, dezvoltării și înmulțirii organismelor vii, energie care pune în mișcare toate manifestările biologice.

Importanța deosebită a degajării energiei libere în cursul metabolismului nu constă numai în realizarea procesului endoergonic de sinteză chimică a substanțelor noi, proces care stă la baza creșterii, dezvoltării și înmulțirii organismelor, ci și în menținerea însăși a structurii corpurilor vii. Numeroase date furnizate de științele biologice confirmă existența unei condiționări reciproce intime între intensitatea proceselor de metabolism care au loc în organism și apariția și menținerea structurilor labile ale protoplasmei celulare. Energia pusă în libertate în cursul diferitelor transformări chimice reprezintă factorul hotărîtor în conservarea structurilor protoplasmei, mitocondriilor, microzomilor etc. Așadar, degajarea permanentă de energie în cursul metabolismului este condiția de bază pentru menținerea structurii labile a protoplasmei vii. Încetarea metabolismului sau numai reducerea aportului de energie prin slăbirea treptată a reacțiilor energetice duce la modificări ireversibile ale structurii materiei vii, la distrugerea ei. *Metabolismul reprezintă baza vieții, pentru că el furnizează în permanență energia necesară pentru menținerea vieții organismelor, a creșterii, a dezvoltării și a înmulțirii lor.*

Dar pentru ca reacțiile chimice care în totalitatea lor formează ceea ce numim metabolism să se producă, este necesar ca diversele molecule care intră în reacție să fie în stare activă. Procesul de activare a acestora se realizează prin intervenția enzimelor. Prima verigă a metabolismului la animal și la om este *digestia*, proces care constă în descompunerea substanțelor alimentare în elementele lor componente. Descompunerea proteinelor, grăsimilor, amidonului, celulozei etc. se realizează exclusiv prin intervenția enzimelor secretate de glandele digestive. Fără enzime, toate aceste substanțe ar rămîne neschimbate, iar organismul ar înceta să mai existe.

Datele de biochimie arată că proteinele joacă un rol de frunte în metabolismul biologic, deoarece procesele de formare și de transformare a acestor substanțe nu numai că sînt legate în mod intim

Scanned with OKEN Scanner

de alte verigi ale metabolismului unic (metabolismul hidraților de carbon, al grăsimilor, sărurilor minerale etc.), dar determină totodată sensul și intensitatea celorlalte procese metabolice. Biochimia a dovedit că în condiții obișnuite proteina nu poate exista fără o interacțiune activă cu substanțele de altă natură. Tocmai de aceea metabolismul a apărut la corpurile proteice organizate, cu structuri bine determinate, și nu la proteina individualizată, izolată de mediul natural de existență. *Proteinele reprezintă baza vieții atît datorită participării lor la toate procesele metabolice, cît și faptului că intră în compoziția tuturor organismelor fără excepție.*

Proprietățile biologice cele mai importante ale proteinelor depind nu numai de însușirile lor fizico-chimice, ci și de macrostructura și forma moleculelor lor, de capacitatea acestor molecule de a se asocia cu complecși moleculari mari. Se știe că proteinele reacționează fără excepție cu toate substanțele din organismul viu formînd combinații complexe cu glicogenul, amidonul, grăsimile, vitaminele, acizii nucleici, substanțele minerale etc.

Biosinteza și metabolizarea proteinelor sînt strîns legate de procesele de asimilare ale bioxidului de carbon și de sinteza substanțelor organice pe calea fotosintezei. Astfel, în organismul vegetal procesele de asimilație clorofiliană duc la formarea α-cetoacizilor necesari pentru sinteza proteinelor. Așa cum vom vedea mai departe, din α-cetoacizi, prin reacții de aminare directă sau transaminare, se formează toți aminoacizii necesari sintezei proteinelor. Aminoacizii dicarboxilici (acidul glutamic, acidul aspartic), precum și amidele lor (glutamina, asparagina) dețin un rol-cheie nu numai în metabolismul proteic, ci și în conexiunea acestui metabolism cu acela al hidraților de carbon și lipidelor. Astfel, la plante aminoacizii dicarboxilici și amidele lor servesc la inactivarea amoniacului format în timpul transformărilor succesive ale substanțelor azotate, proces deosebit de activ în timpul germinării. Acești aminoacizi și amidele lor sînt primii produși de sinteză ai substanțelor azotate pe seama amoniacului exogen, servind în același timp drept rezerve de grupări aminice. În cazul existenței unei cantități suficiente de hidrați de carbon, grupările aminice din molecula acestor aminoacizi sînt folosite de plantă pentru sinteza altor aminoacizi și deci a altor proteine. În organismul animal, mai mult decît la plante, aminoacizii dicarboxilici și amidele lor sînt de o importanță excepțională pentru metabolism, ei participînd la procesele de transaminare, reacții de importanță uriașă pentru organismele vii. Dar și alți aminoacizi, ca, de pildă, fenilalanina, tirozina, triptofanul, histidina,

Scanned with OKEN Scanner

prin substanțele biologic active în care se transformă (hormoni, amine biogene), influențează toate fazele metabolismului.

Subliniind rolul covîrșitor al proteinelor în metabolism, nu trebuie totuși să neglijăm importanța celorlalți compuși. Astfel, sărurile minerale ocupă un loc însemnat în procesele osmotice și bioelectrice. De asemenea, în reacțiile energetice ale metabolismului intervin în mod activ combinațiile fosforice și mercaptanice macroergice, grăsimile și hidrații de carbon.

Metabolismul reprezintă forma universală a legăturilor și a condiționărilor reciproce în natura vie. Bogatul material acumulat în urma studiului metabolismului confirmă teza după care în acest proces natural nu există nici o singură substanță a cărei transformare să aibă loc independent de alte substanțe, în mod izolat de sensul și cursul dezvoltării organismului viu și de unitatea sa cu mediul extern. Tehnica moleculelor marcate cu atomi radioactivi și cu atomi grei a ajutat la punerea în evidență a etapelor intermediare multiple și complexe ale metabolismului, precum și a corelațiilor intermetabolice dintre diferitele componente structurale și funcționale. Au fost puse în evidență căi metabolice majore în cursul cărora apar compuși metabolici cu rolul de puncte de încrucișare a diferitelor componente biologice. S-a dovedit că aceste căi metabolice majore simplifică mecanismele prin care celula vie își obține energia necesară fenomenelor vitale cît și compușii chimici care intră în constituția sa. Exemplul cel mai concludent de cale metabolică majoră și în același timp comună este ciclul acizilor tricarboxilici, numit și ciclul Krebs, care constituie calea comună de transformare pînă la CO_2 și H_2O a glucidelor, lipidelor și protidelor. Ciclul acizilor tricarboxilici stabilește cele mai importante corelații metabolice care au loc în celulă, și anume corelația dintre glucide și lipide, dintre glucide și protide, corelația cu metabolismul aminoacizilor, al porfirinelor, purinelor, pirimidinelor, precum și corelația cu reacțiile care alcătuiesc ceea ce numim respirație celulară.

Corelația metabolică dintre glucide și lipide se realizează prin intermediul restului acetil, sub forma sa activă de acetil-coenzima A, care provine atît din decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic derivat din glucide, cît și prin β-oxidarea acizilor grași.

Corelația metabolică dintre glucide și protide se realizează prin intermediul acizilor: α-cetoglutaric, oxalacetic și fumaric, care provin, pe de o parte, din oxidarea aminoacizilor derivați din proteine, iar pe de altă parte din oxidarea glucidelor pe calea acetil-CoA. Acizii α-cetoglutaric și oxalacetic reprezintă elementele

Scanned with OKEN Scanner

cele mai importante care stabilesc legătura dintre metabolismul glucidic și protidic prin procesul de transaminare și dezaminare oxidativă. Legătura cu metabolismul amoniacului, respectiv cu ciclul de formare a ureei, ciclul ornitinic, se realizează prin intermediul acidului fumaric, care reprezintă o componentă comună. Legătura cu metabolismul porfirinelor, al purinelor și pirimidinelor se realizează prin intermediul acidului succinic, pe calea așa-numitului succinat-glicină. În sfîrșit, corelația cu reacțiile respirației celulare se realizează prin produsele finale ale oxidării compușilor glucidici, lipidici și cei ai aminoacizilor. Respirația celulară se poate identifica oarecum cu o parte din lanțul ciclic al reacțiilor în care cei trei acizi tricarboxilici (citric, izocitric și cisaconitic) formează punctele de fixare de la care pornește formarea diacizilor cu patru atomi de carbon, socotiți drept constituenți ai procesului de respirație celulară. În plus, hidrogenii acestor acizi (succinic, fumaric, malic, oxalacetic) sînt fixați pe acceptori enzimatici ai fosforilării oxidative (NAD, NADP, FAD, citocromi) și transmiși, prin intermediul acestora, oxigenului molecular, cu formare de apă ca produs final al fenomenelor de ardere. Corelația dintre ciclul acizilor tricarboxilici, respirația celulară și fosforilarea oxidativă reprezintă calea majoră prin care celula se aprovizionează cu energie.

Ciclul glioxilat și ciclul acizilor tricarboxilici sînt funcțional intercorelați, compușii acestora fiind precursorii multor constituenți celulari. Astfel, acidul α-cetoglutaric este precursorul acidului glutamic, al prolinei, hidroxiprolinei, citrulinei, ornitinei, succinil-coenzimei A și al porfirinelor, iar acidul oxalacetic este precursorul acidului aspartic, al bazelor pirimidinice, treoninei, acidului fosfopiruvic, hexozelor, pentozelor, triptofanului, tirozinei și alaninei.

În sfîrșit, transaminarea și transdezaminarea reprezintă o cale metabolică importantă de încrucișare a metabolismelor prin intermediul acidului glutamic și aspartic și al cetoacizilor corespunzători (α-cetoglutaric și oxalacetic) care fac legătura cu ciclul acizilor tricarboxilici. Totodată, acidul aspartic, prin intermediul acidului carbamil-aspartic, conexează metabolismul intermediar cu cel al bazelor pirimidinice.

Biochimia modernă a creat noțiunea de *fond metabolic intracelular*, prin care se înțelege ansamblul constituenților de origine exogenă sau endogenă rezultați din procese de dezasimilație și folosiți în procese de asimilație. Fondul metabolic intracelular reprezintă

Scanned with OKEN Scanner

elementul prin intermediul căruia se stabilește în cadrul schimbului de substanțe un echilibru dinamic între aport și utilizare. Acest fond este constituit din unități cu moleculă mică, care conține unul doi sau trei atomi de carbon, compuși rezultați din diferite procese metabolice și pe care celula îi folosește pentru procesele biosintetice care duc la formarea de molecule mai complexe în raport cu necesitățile acesteia. Un exemplu tipic de fond metabolic comun îl constituie acetil-coenzima A, care provine din degradarea glucidelor, lipidelor și protidelor alimentare și celulare și care folosește nu numai la furnizarea de energie pe seama ciclului Krebs, ci și la biosinteza diferiților compuși necesari activității celulare (acizi grași, corpi cetonici, colesteroli etc.).

O caracteristică a materiei vii este capacitatea sa de autoreglare metabolică în raport cu diferitele condiții de mediu în care se află organismul respectiv. La animalele superioare și la om, sistemul nervos central și glandele endocrine dețin un rol fundamental în mecanismul de reglare metabolică generală. Este suficient să luăm ca exemplu hormonul tiroidian (tiroxina) pentru a ne da seama de rolul deosebit de important al substanțelor hormonale în reglarea proceselor metabolice. Acest hormon are multiple și complexe acțiuni biologice și biochimice, legate atît de formarea de energie, cît și de utilizarea acesteia de către țesuturi. Fosforilarea oxidativă, care asigură o mare parte din energia vitală a celulei, este influențată de hormonii tiroidieni pe mai multe căi, și anume prin reglarea formării de legături macroergice fosfatice (ATP), prin creșterea vitezei de oxidare a diferiților compuși care se află în celule, cu menținerea în limite fiziologice a procesului de fosforilare oxidativă etc. Sistemele enzimatice oxidoreducătoare care catalizează reacțiile producătoare de energie sînt activate sau frînate tot de către hormonii tiroidieni. Majoritatea reacțiilor biochimice legate de utilizarea energiei ca, de pildă, biosinteza proteinelor, a grăsimilor, hidraților de carbon, vitaminelor, ca și contracția musculară și termoreglarea, sînt influențate de asemenea de hormonii tiroidieni.

La organismele cele mai simple, ca, de exemplu, la cele monocelulare, care nu posedă sistem nervos și hormonal, autoreglarea metabolică se realizează prin alte mecanisme localizate la nivelul sistemelor enzimă-substrat. Aceste mecanisme biochimice directe de reglare a metabolismului celular, care se mențin și la organismele superior organizate, permit ajustarea la nivel molecular a

Scanned with OKEN Scanner

activității metabolice în raport cu condițiile de mediu, contribuind astfel la menținerea structurilor și a funcțiilor celulare. Așa, de exemplu, datorită acestor mecanisme, organismul monocelular își poate obține energia necesară din glucide prin mecanismul fermentației, în condiții anaerobe, și al oxidării, în condiții aerobe. Mecanismele moleculare de autoreglare metabolică care acționează la nivelul sistemelor enzimă-substrat influențează asupra factorilor de care depinde în special activitatea sistemelor enzimatice, și anume concentrația substratului, inhibitorii și activatorii. Concentrația substratului asupra căruia acționează enzima poate constitui un factor de autoreglare metabolică.

Un mecanism asemănător cu cel care funcționează în automatică este așa-numitul *feed-back*, în care un proces care progresează creează la un moment dat, printr-o reacție contrară, condiții nefavorabile desfășurării sale mai departe. Inhibarea unui sistem enzimatic de către un produs de metabolism al său este unul dintre mecanismele cele mai eficace ale autoreglării metabolice.

Datele privind autoreglarea metabolică arată că coordonarea strictă, ordinea determinată, bazată pe legi obiective, a numărului mare de reacții care au loc în mod continuu în organismele vii sînt determinate de legi biologice. Trebuie să subliniem însă faptul că coordonarea metabolismului, legile acestuia nu pot fi înțelese și explicate numai pe baza concepțiilor fizice și chimice obișnuite, deoarece fizica și chimia materiei vii au legile lor specifice, care se deosebesc de legile fizice și chimice ale substanțelor anorganice.

Plantele verzi, laboratoare de transformare a azotului mineral în substanțe proteice

În circuitul carbonului, azotului, sulfului, fosforului și al altor elemente chimice, plantele verzi joacă rolul unor adevărate laboratoare de transformare a substanțelor minerale în substanțe organice, acumulînd în moleculele de glucide, lipide și protide o cantitate enormă de energie, pe care o pun apoi la dispoziția organismelor animale.

După cum am văzut, plantele și animalele se deosebesc fundamental unele de altele sub raportul posibilităților de transformare a materiei anorganice în materie organică. Organismul animal este incapabil de a transforma azotul mineral (nitrați și amoniac) în azot organic, iar o parte din aminoacizii necesari sintezei protei-

Scanned with OKEN Scanner

ce nu pot fi sintetizați decît de organismele autotrofe, adică de plantele verzi. Așa cum vom vedea mai departe, organismul animal poate să sintetizeze un număr infinit de variat de substanțe proteice cu rol fundamental pentru viață, pornind însă nu de la azotul mineral, ci de la azotul organic inclus în molecula aminoacizilor. Cu toate acestea, din punctul de vedere al nutriției proteice, organismele animale sînt complet dependente de organismele vegetale în ceea ce privește procurarea de aminoacizi esențiali.

În primul capitol al acestei lucrări au fost prezentate caracterele generale și particulare ale principalilor compuși azotați din natura vie, adică ale aminoacizilor și proteinelor. În cele ce urmează ne vom ocupa de modul în care acești compuși azotați iau naștere în plantele verzi, precum și de interrelațiile lor cu celelalte substanțe de bază (glucide, lipide) care se formează tot în celulele vegetale.

În ultimii 15 ani, numărul aminoacizilor și iminoacizilor prezenți în plante a crescut de la 25—30, cîți erau cunoscuți, la aproape 100 datorită introducerii unor tehnici avansate de cercetare. Totuși, în etapa actuală de dezvoltare a biochimiei vegetale dispunem încă de puține date care să arate distribuția exactă în plantă a acestui număr mare de aminoacizi. Aminoacizii care se găsesc în proteinele vegetale, legați deci între ei în macromoleculele proteice, se găsesc în același timp și liberi. Aminoacizii liberi apar în cantitate mică sau foarte mică în aproape toate organele plantelor. În germenii semințelor de leguminoase și în sucurile plantelor de rădăcinoase se găsesc cantități ceva mai mari de aminoacizi. În rădăcinile și în trunchiurile merilor s-au găsit cantități mari de arginină și asparagină și cantități mici de acid glutamic, serină, histidină, alanină, valină și alți aminoacizi. De asemenea s-a constatat că sucurile de conifere sînt foarte bogate în acid glutamic liber. În unele fructe au fost găsite cantități mari de aminoacizi liberi. În semințele de cereale au fost identificați prin cromatografia pe hîrtie peste 15 aminoacizi liberi.

Aminoacizii liberi diferă din punct de vedere cantitativ de la specie la specie și chiar de la un organ la altul, în funcție de factorii care influențează nutriția plantei. Distribuția multor aminoacizi la diversele familii de plante și în interiorul aceleiași familii apare cu totul întîmplătoare. Unii aminoacizi par a fi caracteristici pentru unele familii de plante, ca, de exemplu, acidul azotidin-carboxilic pentru liliacee. Rolul fiziologic al aminoacizilor care apar liberi în plante este încă puțin cunoscut.

Scanned with OKEN Scanner

Dintre substanțele organice bogate în azot care se găsesc în plante, glutamina, asparagina și arginina au fost primele care au atras atenția cercetătorilor. Acestora li s-au adăugat ulterior alantonina și acidul alantoinic, care împreună cu asparagina, glutamina și arginina formează așa-numitele rezerve mobile de azot. Dintre acestea, glutamina este compusul azotat cel mai important atît în metabolismul animalelor, cît și în cel al plantelor. În ceea ce privește asparagina, mulți autori o consideră ca fiind un produs elaborat în special de plante, folosită pentru sinteza proteinelor numai de către animalele rumegătoare. Într-adevăr, s-a constatat că asparagina introdusă în organismul animalelor superioare pe cale digestivă este eliminată în cea mai mare parte prin urină.

Cercetările întreprinse pînă în prezent au elucidat numeroase aspecte importante privind rolul glutaminei și al asparaginei ca depozit de amoniac în organismul plantelor. Așa, de pildă, s-a putut dovedi că în semințele germinate de *Lupinus luteus* 80% din azotul proteic inițial se transformă în asparagină, iar restul de 20% în proteine tisulare ale embrionilor. Prin expunere la lumină, cantitatea de asparagină din germeni scade, iar azotul din ei este folosit la sinteza proteinelor. Alte experiențe clasice au contribuit la elucidarea tabloului general al formării și transformării substanțelor proteice din plante în condiții diferite de dezvoltare ale acestora. Astfel s-a demonstrat că în timpul germinării semințelor la întuneric se formează α-cetoacizi. Amoniacul care apare în procesul de dezaminare al unei părți din aminoacizi este folosit pentru sinteza asparaginei și a glutaminei. La lumină se formează din nou α-cetoacizi ca rezultat al proceselor de aminare directă și transaminare, și anume aminoacizi care folosesc la sinteza proteinelor. Alte experiențe au arătat că în metabolismul proteinelor aminoacizii dicarboxilici și amidele lor servesc pentru a face inofensiv amoniacul care apare în timpul germinării. În același timp acești acizi și amidele lor sînt primii produși ai sintezei substanțelor azotate pe seama amoniacului exogen, constituind totodată rezerve de grupări aminice. În cazul existenței unei cantități suficiente de hidrați de carbon, aceste grupări aminice de rezervă sînt folosite de plantă pentru sinteza altor aminoacizi și proteine, pe calea aminării și a transaminării cetoacizilor.

Vacuolele din celulele vegetale funcționează ca adevărate rezerve în care sînt stocați compușii azotați solubili și aminoacizii liberi. Dintre organele plantelor care funcționează ca rezervoare de sub-

Scanned with OKEN Scanner

stanțe azotate menționăm tuberculii, bulbii, rizomii și chiar frunzele mature, organe bogate în compuși azotați solubili. Semințele și fructele sînt deosebit de bogate în azot, care este depozitat mai ales sub formă de proteine. Așadar, la plante, spre deosebire de animale, azotul e luat din nitrați și amoniac, fiind apoi încorporat în moleculele organice de aminoacizi, proteine și alți compuși azotați și reținut de către diferitele organe ale plantei sub formă de rezervă. O parte din substanțele azotate solubile depozitate sînt folosite de către zonele în creștere ale plantei pentru sinteza compușilor azotați necesari. Substanțele azotate solubile în alcooli, și în special aminoacizii liberi, se găsesc în cantități mult mai mici în celulele vegetale aflate în creștere, unde predomină substanțele azotate solubile în alcooli, și în special proteinele. În același timp, celulele care formează organele de depozit sînt foarte bogate în substanțe alcoolo-solubile și mai ales în aminoacizi liberi. Astfel, aproape 2/3 din azotul depozitat în tuberculii de cartof și 1/2 din cel al rădăcinilor de carote se găsește sub formă de compuși solubili liberi, necombinați în molecule proteice, spre deosebire de compușii azotați solubili din culturile de țesuturi. În aceste culturi, compușii azotați solubili, printre care și aminoacizii liberi, se găsesc în cantități foarte mici. Spectrul substanțelor azotate solubile din diferitele organe ale plantei se află în continuă schimbare, chiar dacă într-un anumit organ există un echilibru azotat aproximativ între acești compuși și cantitatea totală de proteine.

Metabolismul azotului și stocarea compușilor azotați solubili în plante sînt puternic influențate de substanțele nutritive anorganice. Astfel, carența unor elemente, cum ar fi sulful, determină o acumulare masivă de amide, și în special de glutamină, precum și de arginină. Dar nu numai substanțele nutritive din mediul înconjurător influențează dinamica metabolismului azotat în plantă, ci și alți factori de mediu, în care se dezvoltă planta. De pildă, influența diurnă a luminii asupra metabolismului azotat din unele plante se manifestă prin creșterea cantității de glutamină din frunze în timpul zilei și a asparaginei în timpul nopții, precum și prin accelerarea procesului de biosinteză proteică de către lumina zilei și a procesului invers, de descompunere a acestor substanțe în timpul nopții. De asemenea s-a constatat că diferitele procese ale metabolismului azotat din plante sînt influențate de lungimea de undă. Astfel, celulele algei numite *Chlorella* sintetizează cu 25—30% mai mult acid aspartic și cu 20% mai puțină serină și glicocol în lumina roșie și albastră (4% albastru) decît în lumina roșie.

Scanned with OKEN Scanner

Un aspect deosebit de important al metabolismului azotat la plante îl constituie modul în care acesta este influențat de lungimea zilei și a nopții, precum și de fluctuațiile diurne ale temperaturii. Mai mult, acțiunea condițiilor de mediu se poate combina cu aceea a substanțelor nutritive. Astfel, lungimea zilei, de pildă, se combină cu acțiunea potasiului, iar lungimea nopții cu aceea a calciului.

Asimilarea azotului de către plantele superioare este deosebit de complexă, fiind strîns legată de metabolismul hidraților de carbon. Să vedem în continuare ce se întîmplă cu compușii azotați solubili, nelegați în moleculele proteice, luînd ca exemplu glutamina și asparagina. S-a constatat că glutamina este prezentă îndeosebi în zonele de creștere și de biosinteză proteică. Experimental, pentru culturile de țesuturi, glutamina reprezintă o bogată sursă de azot. Spre deosebire de glutamină, asparagina apare în condiții nefavorabile procesului de creștere sau acolo unde biosinteza proteică a încetat să se producă sau unde are loc descompunerea proteinelor. În tulberculii de cartofi și în rădăcina de morcovi, care conțin în mod normal asparagină ca principală substanță azotată de depozit, activarea procesului de creștere determină dispariția aproape completă a acesteia și persistența glutaminei.

Sinteza glutaminei în plantele verzi nu are loc pe o singură cale metabolică, ci pe mai multe, în raport cu diferite condiții și cu compușii chimici care constituie sursa de formare a scheletului carbonic al acestei substanțe azotate. Astfel, în organele ce servesc ca depozit, ca, de pildă, în rădăcina de sfeclă, glutamina ia naștere din acidul glutamic printr-un proces de amidare (acid glutamic + amoniac → glutamină). S-a dovedit că azotul grupării amidice provine din amoniacul exogen, iar gruparea aminică din surse endogene, ca, de pildă, din acidul glutamic. În alte condiții însă, cum ar fi în culturile de țesuturi aparținînd organelor de depozitare ale unor plante (morcovul), glutamina se formează cu ușurință din acidul γ-aminobutiric exogen. Cu alte cuvinte, scheletul carbonic al glutaminei care ia naștere în organele de depozitare provine îndeosebi din acidul α-cetoglutaric generat de ciclul Krebs, în timp ce scheletul carbonic al glutaminei, care se sintetizează în celulele în creștere, provine din acidul γ-aminobutiric generat, probabil, de semialdehida succinică. Ca și în cazul organelor de depozitare, scheletul carbonic al glutaminei din frunzele aflate în plină activitate fotosintetizantă poate proveni direct din bioxidul de carbon antrenat în procesul de fotosinteză, așa cum au arătat-o cercetările cu carbon marcat ($^{14}CO_2$). În frunzele care se găsesc în con-

Scanned with OKEN Scanner

diții nutritive deficitare, cum ar fi, de exemplu, lipsa de sulf, glutamina se acumulează în cantități foarte mari. În acest caz se pare că această substanță azotată ia naștere din sursă endogenă, foarte probabil pe calea descompunerii proteinelor.

În ceea ce privește sinteza asparaginei, deși experiențele cu carboni marcați au fost mai dificil de realizat decît în cazul glutaminei, au putut fi trase totuși unele concluzii. Astfel, cercetările efectuate pe frunze de grîu au arătat că formarea asparaginei ar avea loc pe calea transformării acidului fumaric în acid oxalic, a acestuia din urmă în acid aspartic, care prin amidare cu amoniac duce la formarea asparaginei. Dar experiențele efectuate pe frunze de fasole tot cu carbon marcat au arătat că circa 75% din carbonul marcat din bioxidul de carbon absorbit de frunză pentru sinteză a fost regăsit în molecula asparaginei. Aceste rezultate diferă deci de cele obținute prin experiențele pe frunze de grîu, arătînd că biosinteza asparaginei se poate face nu numai pe calea intermediarilor din ciclul acizilor tricarboxilici, ci și direct din bioxidul de carbon în procesul de fotosinteză.

Experiențele privind biosinteza alaninei arată că formarea aminoacizilor și a altor compuși azotați neproteici în plantele verzi are loc în condiții diferite și pe căi diferite. Astfel, dacă frunzele de grîu asimilează acid succinic marcat, în absența amoniacului se formează cantități mici de alanină marcată, în a cărei moleculă 96% din carbonul marcat provenit de la acidul succinic poate fi găsit în gruparea carboxilică a alaninei. Dacă însă se adaugă amoniac alături de acidul succinic marcat se formează o cantitate mult mai mare de alanină radioactivă, iar gruparea carboxilică a acestui aminoacid conține numai 2% din carbonul marcat.

Problema relațiilor dintre compușii azotați solubili pe care îi sintetizează plantele verzi și anabolismul și catabolismul proteic se află în atenția cercetărilor biochimice moderne. Clasic se consideră că toți atomii de carbon care intră în macromoleculele proteice provin din aminoacizii solubili aflați în stare liberă în celulă. La animale, între compușii azotați solubili, respectiv aminoacizi, și cei insolubili, îndeosebi proteine, există o strînsă legătură. Nu același lucru se întîmplă însă la plantele verzi, care conțin infinit mai mulți compuși azotați neproteici solubili sub formă de rezervă, prelucrați și neprelucrați înainte de a fi incluși în macromolecula proteică. Cu alte cuvinte, calea obișnuită de formare a proteinelor direct și exclusiv din aminoacizi, prin înlănțuirea acestora într-un anumit mod cu ajutorul legăturilor peptidice, valabilă pentru

Scanned with OKEN Scanner

organismul animal, nu este unică și exclusivă pentru organismul plantelor verzi. Astfel s-a constatat că primii produși care apar în procesul de fotosinteză sînt deosebit de accesibili pentru sinteza proteică, mai accesibili chiar decît aminoacizii existenți și depozitați în plantă sub formă liberă. Este interesant faptul că bioxidul de carbon marcat este stocat în timpul fotosintezei într-o foarte mare măsură în macromoleculele proteice sau cel puțin în fracțiunea solubilă în alcool a compușilor azotați, care, după cum știm, este formată în cea mai mare parte din proteine. Mai mult, fotosinteza care se produce în timpul experiențelor cu bioxid de carbon marcat este însoțită de formarea în cantități foarte mici de aminoacizi solubili. Așadar, aceste experiențe arată că atomii de carbon marcați din molecula bioxidului de carbon sînt incluși, sub acțiunea luminii, în molecula proteică într-o proporție mai mare pe cale directă decît pe calea aminoacizilor solubili, care sînt stocați în celule. Înseamnă deci că în plantele verzi calea simplificată de includere a carbonului în molecula proteică este următoarea:

carbon → proteină și nu carbon → aminoacizi → proteină.

Experiențe relativ recente au permis să se presupună că aminoacizii din structura proteinelor sînt sintetizați direct din compușii intermediari care apar în procesul de reducere a bioxidului de carbon din timpul fotosintezei. De asemenea s-a putut demonstra că biosinteza proteică se produce nu pe seama întregului fond metabolic de acizi aminați liberi, ci pe baza unor cantități relativ mici de acizi aminați liberi, care formează fondul activ și care se distinge de fondul metabolic inactiv în care sînt incluse substanțele azotate solubile. Precursorii atomilor de carbon care participă la procesul de biosinteză proteică derivă, mai mult sau mai puțin direct, din atomii de carbon antrenați în procesul de fotosinteză și care nu se amestecă ușor cu compușii solubili ai carbonului din celula vegetală. Concluzii asemănătoare s-au tras și din experiențele efectuate asupra culturilor de țesuturi izolate din carote, la care s-a adăugat zahărul marcat cu carbon radioactiv, ca sursă de carbon, și glutamina și acidul γ-aminobutiric, marcați cu azot radioactiv. Cu acest prilej s-a constatat că atomii de carbon marcați din molecula glucozei sînt incluși în molecula proteică mult mai repede decît cei din molecula aminoacizilor, că activitatea specifică a unor aminoacizi, ca, de exemplu, aceea a acidului glutamic, se manifestă mai accentuat cînd sursa de carbon era glucoza și mai puțin cînd această sursă era constituită din aminoacizi marcați. Glucoza

Scanned with OKEN Scanner

marcată absorbită intră în acea fază a metabolismului celular care este intim legată de procesele de asimilație sau de reacțiile anabolice, în care ciclul acizilor tricarboxilici operează pe linia sintezei, fapt care explică de ce carbonul marcat al glucozei este inclus direct în molecula de proteină.

Spre deosebire de glucoză, aminoacizii liberi stocați în celulă pot fi considerați ca derivînd în mare măsură din descompunerea proteinelor în timpul fazei catabolice a metabolismului celular. Azotul provenit din descompunerea proteinelor este pus la dispoziția proceselor de resinteză proteică, iar scheletul carbonic al produșilor rezultați din descompunerea proteinelor se elimină sub formă de bioxid de carbon. În acest fel, aminoacizii intermediari sau precursori ai procesului de biosinteză proteică nu se amestecă cu cantitățile mari ale fondului de compuși azotați solubili din celula în care, așa cum am văzut, se află aminoacizi liberi. Ca atare, aminoacizii liberi existenți în cantități mari în celulele plantelor nu constituie precursori imediați ai proteinelor, deoarece, așa cum s-a arătat mai sus, atomii de carbon ai moleculelor proteice provin mai mult din glucide decît din acești aminoacizi liberi. Desigur că fenomenele sînt mult mai complexe decît le-am prezentat.

Studiindu-se metabolismul prolinei, s-a constata că acest aminoacid este încorporat direct în molecula proteică. Astfel, dacă la culturile de țesuturi izolate din carote se adaugă prolină marcată, atomii de carbon marcați nu se acumulează în cantități mari în fracțiunea solubilă a compușilor azotați, în care se află, desigur, și prolină.

Experiențe recente au arătat că țesuturile unor plante folosesc aminoacizi din sursă exogenă mai mult decît pe cei endogeni. Celula vegetală folosește ca sursă de carbon pentru sinteza proteică un compus sau altul în funcție nu numai de natura acestuia, ci și de localizarea lui în interiorul celulei. Întrucît aceleași substanțe pot exista în diferitele zone ale celulei sub formă de compuși liberi, posibilitățile lor de a pune la dispoziție atomi de carbon pentru procesul de biosinteză proteică depinde în mare măsură de faptul dacă acestea sînt sau nu accesibile locului unde se produce această sinteză. Astfel, studiindu-se sursele de carbon pentru sinteza proteică la cereale cu ajutorul bioxidului de carbon marcat, s-au constatat următoarele fapte : compușii solubili din frunzele răsadului de cereale au devenit puternic radioactivi, după ce timp de două ore fotosinteza s-a desfășurat în atmosferă de bioxid de carbon marcat. De asemenea, aminoacizii din proteine, aminoacizii liberi,

Scanned with OKEN Scanner

ca și zaharurile, au manifestat proprietăți radioactive. Ulterior, plantele au fost puse în condiții de a continua fotosinteza timp de 16 ore pînă la 16 zile în prezența bioxidului de carbon neradioactiv. În acest interval s-a constatat o creștere a cantității totale de proteine sintetizate, paralel cu o creștere relativ mică a radioactivității acestor proteine, în timp ce aminoacizii solubili erau încă puternic radioactivi. Din această experiență s-a tras concluzia că în procesul de biosinteză a proteinelor s-a folosit carbonul din sursa imediat accesibilă, neradioactivă, adică produși de fotosinteză și nu s-au folosit zaharuri sau aminoacizi liberi deja sintetizați și stocați în celulă și care își menținеau o radioactivitate crescută.

Capacitatea deosebită pe care o au frunzele verzi de a sintetiza proteine se datorește tocmai faptului că produșii care apar în procesul de fotosinteză devin imediat accesibili și disponibili locului unde are loc biosinteza proteică. Așa, de pildă, zahărul marcat este transformat repede în acid aspartic și glutamic radioactiv, care sînt prezenți în molecula de proteină. De asemenea, carbonul din bioxidul de carbon marcat este rapid inclus în arginina și lizina din proteinele sintetizate. Cu alte cuvinte, accesibilitatea carbonului pentru sinteza proteică este mult mai mare la locul unde se petrece reducerea bioxidului de carbon, adică la nivelul frunzei.

Un alt aspect al metabolismului azotat în plantele verzi îl reprezintă relația dintre așa-numitul *turnover* al proteinelor și fondul comun de compuși azotați solubili în care sînt incluși aminoacizii liberi. Concepția clasică despre metabolismul azotat în plante admite că proteinele sintetizate într-un organ pot fi descompuse, transportate și apoi resintetizate în alt organ al aceleiași plante. Această transformare a proteinelor poartă numele de turnover. Turnoverul proteinelor din organismul plantei, luat ca un tot, reprezintă un fenomen foarte diferit de ceea ce se înțelege în mod curent prin noțiunea de turnover proteic la nivelul celulei. Chiar descompunerea unei proteine și resinteza alteia, care are loc în timpul procesului de dezvoltare, nu reprezintă ceea ce înțelegem în mod obișnuit prin turnoverul proteinelor, întrucît acesta presupune o descompunere și o resinteză ciclică a proteinelor, care sînt active din punct de vedere metabolic. Așadar, o oarecare cantitate de proteine din organismul plantei este supusă în mod ciclic procesului de descompunere în aminoacizi după care azotul este reinclus în ciclul metabolic prin sinteza de noi proteine, iar scheletul carbonic al compușilor rezultați din degradarea proteinelor este eliminat prin respirație sub formă de CO_2. Autorii clasici considerau că rit-

Scanned with OKEN Scanner

mul de descompunere și resinteză a proteinelor în cadrul turnoverului determină, în parte, ritmul proceselor respiratorii.

Biochimia vegetală a acumulat un vast material experimental, care arată că și în molecula proteinelor din plantele verzi au loc schimbări calitative și cantitative intense. Multe cercetări dinaintea erei izotopilor radioactivi au arătat că proteinele vegetale suferă schimbări importante în funcție de starea fiziologică a plantei. Astfel s-a arătat că, în procesul de dezvoltare a boabelor de grîu, în gliadina care se acumulează în acestea au loc variații ale conținutului în histidină, triptofan și arginină, iar în fracțiunea hidrosolubilă variații ale conținutului de arginină, histidină și tirozină. Asemenea variații ale compoziției aminoacizilor au fost observate și la proteinele conținute în semințele de orz și de in. Cercetîndu-se proteinele din organele vegetative ale plantelor, s-au observat deosebiri evidente între proteina din frunzele și tuberculii de cartofi, frunzele și semințele de pepene, sfecla de zahăr și sfecla alimentară etc. Studierea compoziției în aminoacizi a proteinei izolate din plastidele rădăcinii sfeclei de zahăr a arătat că aceasta variază în procesul de dezvoltare a plantei. Astfel, în afară de conținutul în acid aspartic, acid glutamic, alanină și arginină, care rămîne oarecum constant, ceilalți aminoacizi, ca glicocolul, lizina, tirozina și valina, variau o dată cu vîrsta. Cantitatea de serină și leucină scădea cu timpul la mai mult de jumătate, iar conținutul în cistină și treonină creștea. Faptul că variațiile cele mai importante se constatau la aminoacizii care posedă grupări funcționale deosebit de active (serina, treonina, cistina), precum și la cei care au schelet ramificat de atomi de carbon, a determinat pe autorii clasici să acorde cea mai mare atenție variațiilor suferite de proteină în procesul de dezvoltare a organismului.

Studiile experimentale ulterioare efectuate cu izotopi radioactivi au confirmat existența turnoverului proteic, contribuind în același timp la elucidarea multor laturi ale problemei. Astfel s-a constatat că azotul marcat administrat plantei sub formă de amoniu este inclus în moleculele proteice chiar dacă cantitatea totală de proteină prezentă în plantă rămîne neschimbată sau scade.

Experiențele efectuate pe frunzele izolate de soia au arătat că bioxidul de carbon marcat era captat în procesul de sinteză a unor noi proteine chiar dacă cantitatea totală de proteine din frunză se afla în scădere. Din datele acestei experiențe s-a putut trage concluzia că în mod normal există în frunză un proces continuu de descompunere și de resinteză a proteinelor, că primii produși care se

Scanned with OKEN Scanner

formează în procesul de fotosinteză aprovizionează cu atomi de carbon, cel puțin în parte, resinteza proteinelor.

Dar dovezile care atestă existența unei descompuneri și resinteze ciclice a proteinelor din plante, concomitent cu desfășurarea normală a metabolismului și respirației, sînt furnizate de către experiențele pe celulele vegetale în plină creștere și dezvoltare. După cum am văzut mai înainte, culturile de țesuturi de carote stimulate cu lapte de cocos au fost folosite pentru lămurirea multor aspecte ale metabolismului azotat din celula vegetală. Primele experiențe făcute pe aceste culturi au avut drept scop atît studierea transformărilor pe care le suferă zaharurile, glutamina și acidul γ-aminobutiric sub raportul deosebirilor dintre metabolismul amidelor din celulele în plină creștere și cele stagnate, cît și pentru a vedea în ce măsură glutamina servește ca sursă de azot sau de carbon pentru sinteza proteinelor. Aceste experiențe au folosit însă și pentru lămurirea problemei turnoverului proteinelor. S-a putut constata că laptele de cocos, în afară de stimularea creșterii intensifica și procesul de bionsinteză proteică. De asemenea, s-a observat că proporția de carbon radioactiv încorporat în anumiți aminoacizi (acid glutamic, acid aspartic, treonină) din molecula proteinelor era mai mare decît aceea din proteinele totale. Aceste observații au condus la ideea că în structura proteinelor intră mai mulți aminoacizi liberi decît s-ar putea deduce din creșterea globală a proteinelor celulare. De asemenea, turnoverul proteic a fost în mare parte lămurit prin experiențele care au avut drept obiectiv determinarea activității specifice a glutaminei în celula vegetală. S-a relevat cu acest prilej că biosinteza proteică se bazează pe încorporarea în molecula proteică a carbonului radioactiv provenit din surse exogene.

Glutamina liberă din celula vegetală manifesta o activitate radioactivă în continuă scădere, mai ales atunci cînd provenea din sursă exogenă. De asemenea s-a constatat că glutamina marcată și liberă din celula vegetală manifesta o activitate radioactivă în continuu regres, mai ales cînd această substanță provenea din sursă exogenă, ceea ce înseamnă că o mare cantitate din glutamina nemarcată provenită din descompunerea proteinelor pătrundea în compartimentul substanțelor azotate solubile. Glutamina neradioactivă care se sintetiza în celulă nu provenea din zaharuri, deoarece administrarea de glucoză marcată nu ducea la formarea de glutamină radioactivă. Glutamina radioactivă era ușor transformată în CO_2, care se elimina pe cale respiratorie. În sfîrșit, ritmul de formare a glutaminei în timp era proporțional cu ritmul de creș-

Scanned with OKEN Scanner

tere a țesuturilor în timpul experienței, deoarece scăderea activității radioactive a glutaminei din țesut era paralelă cu creșterea cantității totale de glutamină.

Toate aceste fapte arată deci că viteza cu care se formează glutamina neradioactivă din proteine este mai mare în celulele cu creștere rapidă, că descompunerea proteinelor este cu atît mai intensă cu cît sinteza acestora este mai mare. Cu alte cuvinte, la celulele în creștere rapidă, turnoverul proteic, descompunerea și resinteza proteinelor este cu atît mai mare, cu cît celulele cresc mai repede. Tot în seria experiențelor pe culturi de țesuturi de carote s-a arătat că efectul principal al laptelui de cocos care activează creșterea celulară se caracterizează în primul rînd printr-o intensificare a sintezei proteinelor pe seama substanțelor de rezervă stocate în celulă, precum și a azotului exogen. Prin urmare, laptele de cocos accentuează viteza turnoverului proteic, acționînd ca un stimulator al reacțiilor de degradare și de sinteză proteică, care, la rîndul lor, furnizează carbonul necesar proceselor respiratorii și antrenează noi atomi de carbon pentru reacțiile de resinteză și de degradare care se petrec în cadrul turnoverului. Pe această cale, ciclul proteinelor antrenează carbonul zaharurilor în metabolismul compușilor azotați.

În cadrul turnoverului aminoacizii liberi din celulă sînt incluși în molecula proteică a celulei vegetale pe două căi principale : unii aminoacizi, ca prolina și hidroxiprolina, care se află solubilizați în mediul celular, pot fi încorporați direct în macromolecula proteică în procesul de biosinteză; alți aminoacizi însă, ca acidul glutamic, aspartic și treonina, care intră în constituția compușilor azotați solubili ai celulei, nu reprezintă precursorii imediați ai sintezei proteice, cu alte cuvinte nu sînt încorporați direct în macromolecula proteică, deoarece așa cum s-a arătat, carbonul acestor aminoacizi din molecula proteică provine direct din zaharuri.

Aceste cercetări au condus la ideea că în interiorul celulei vegetale se află două tipuri de proteine, care diferă între ele din punct de vedere funcțional. O parte din proteine, și anume acelea care încorporează direct aminoacizi în molecula lor intrînd în structura celulei, sînt inerte din punct de vedere metabolic; o altă parte sînt foarte active, fiind permanent descompuse și resintetizate într-un ritm determinat de procesele respiratorii. Nu se poate spune însă dacă este vorba de o descompunere și resinteză completă a macromoleculei proteice sau de existența unei părți active a macromoleculei, în care are loc eliberarea și încorporarea ciclică de amino-

Scanned with OKEN Scanner

acizi. S-a emis totuși ipoteza că macromoleculele proteice existente în celulele de carote aflate în creștere ar avea o parte structurală care nu participă activ în procesele metabolice și care încorporează prolina în mod direct, așa cum am văzut mai sus.

Experiențe mai recente au adus date noi care fundamentează și mai mult teoria turnoverului proteic în plante. Astfel s-a studiat procesul de încorporare a metioninei marcate cu sulf radioactiv în molecula proteică la unele ciuperci. S-a constatat cu această ocazie că metionina marcată cu sulf radioactiv este rapid încorporată în molecula proteică din ciuperci chiar dacă cantitatea totală de proteină din organismul acesteia scade o dată cu dezvoltarea ei, de unde s-a tras concluzia că metionina marcată s-a încorporat îndeosebi în fracțiunea proteică activă din punct de vedere metabolic, care se găsește în permanentă transformare. Poteinele formate în ciupercile supuse experiențelor au fost împărțite în două mari grupuri în raport cu solubilitatea lor în alcool și în acid tricloracetic. O parte din proteine erau solubile în alcool și insolubile în acid tricloracetic, iar o altă parte erau insolubile atît în etanol, cît și în acid tricloracetic. Metionina marcată cu sulf radioactiv era încorporată în ambele grupuri de proteine, dar interesant că proteinele insolubile în alcool aveau o viteză de descompunere și de resinteză mult mai mare decît cele solubile, deoarece metionina marcată era încorporată în cantități mai mari în fracțiunea solubilă decît în cea insolubilă (de circa patru ori). În ambele categorii de proteine, procesul de încorporare a metioninei marcate era prezent chiar dacă cantitatea totală de proteine se afla în scădere. După unele calcule, într-o oră proporția de proteine care se află în continuă descompunere și resinteză este de circa 7% la ciuperci, 5% la culturile de diferite bacterii, 0,5—1% la frunzele de tutun și cereale și de 1—2% la culturile de celule izolate de la mamifere. Este interesant de reținut faptul că încorporarea metioninei în fracțiunea proteică cea mai activă din punct de vedere metabolic era legată de alte activități vitale din celulele de ciupercă, ca, de pildă, consumul de oxigen și unele activități enzimatice.

Datele expuse mai sus și studiul metabolismului proteinelor cu ajutorul izotopilor radioactivi au infirmat concepția despre imobilitatea proteinelor tisulare și constituționale și au demonstrat faptul că proteinele tuturor țesuturilor și organelor, în ciuda caracterului în aparență constant al cantității lor, se află într-o continuă reînnoire. Aceste date ale biochimiei moderne, mai cu seamă constatările

Scanned with OKEN Scanner

făcute cu ajutorul izotopilor, reprezintă o nouă confirmare a tezei lui Engels, că orice ființă organică este în fiecare moment aceeași și totodată alta; în orice clipă se asimilează materii ce i-au fost aduse din afară și elimină altele, în fiecare clipă mor celule ale corpului său și formează altele noi; după un timp mai mult sau mai puțin îndelungat, substanța acestui corp e complet înnoită prin alți atomi[1].

Transformările pe care le suferă în plantă azotul mineral pînă la includerea lui în macromolecula proteică nu pot fi înțelese fără a lua în considerație interacțiunea dintre aceste transformări și metabolismul hidraților de carbon, ai acizilor organici, precum și procesele complexe ale respirației plantei. Metabolismul azotat al aminoacizilor și proteinelor este strîns legat de o serie întreagă de funcții ale plantei verzi. Așa, de pildă, procesul de creștere a plantei nu poate fi înțeles fără cunoașterea relațiilor dintre această funcție și biosinteza proteinelor, ca și metabolismul apei și sărurilor minerale.

Echilibrul azotat și autoconservarea organismelor animale

Materia vie este într-un permanent echilibru cu mediul exterior, încorporînd și eliminînd diferite substanțe. La baza tuturor metabolismelor (proteic, glucidic, lipidic, al apei și al electroliților) se află principiul echilibrului dinamic dintre substanțele încorporate și cele eliminate sub formă de deșeuri. Pentru ca un organism să crească, să se dezvolte, să-și mențină în anumite limite fiziologice totalitatea funcțiilor sale, el are nevoie în permanență de substanțe azotate, pe care și le procură din mediul exterior. În același timp, el elimină în mediul exterior alte substanțe azotate, adevărate deșeuri, provenite din transformările multiple și complexe pe care le suferă substanțele azotate încorporate. Astfel, organismul superior organizat își ia din mediul exterior, sub formă de aminoacizi și de proteine, azotul necesar multiplelor reacții metabolice și îl elimină sub formă de uree, acid uric, amoniac, creatinină etc.

[1] F. Engels, *Dialectica naturii*, în K. Marx și F. Engels, *Opere*, vol. 20, Editura Politică, București, 1959, p. 81.

Echilibrul azotat se definește ca fiind diferența dintre cantitatea de azot ingerată și cea excretată. El poate fi exprimat printr-o ecuație simplă: echilibrul azotat = N ingerat — (N urinar + N fecal).

Echilibrul azotat poate fi considerat în același timp ca o modalitate simplă de exprimare a interrelațiilor strînse dintre procesele de descompunere a proteinelor ingerate și cele de biosinteză a proteinelor proprii. Spre exemplu, dacă bilanțul azotat este pozitiv, cu alte cuvinte dacă azotul care se excretă reprezintă o cantitate mai mică decît azotul ingerat, materia vie sintetizează proteine fie în cadrul procesului de creștere a organismului, fie în cel de refacere a proteinelor sale. Acest proces, care se soldează cu un bilanț azotat pozitiv, se întîlnește îndeosebi la organismele tinere, la care procesul de creștere necesită cantități mai mari de substanță azotată și în care caz anabolismul predomină asupra catabolismului. Cînd bilanțul azotat este negativ sau cînd azotul excretat este mai mare sub raport cantitativ decît cel ingerat, materia vie pierde proteine (azot) fie datorită creșterii ritmului de descompunere a proteinelor proprii(catabolism exagerat), fie printr-un aport insuficient de proteine alimentare, aport care nu poate face față nevoilor organismului. Așa se întîmplă în general la bătrîni, dar mai ales în unele boli însoțite de o pierdere masivă în greutate (cancer, boli febrile prelungite, diabet zaharat) și în stările de subnutriție proteică. Cînd cantitatea de azot ingerat este egală cu cea de azot excretat, bilanțul azotat se găsește în echilibru, în care caz materia vie nici nu cîștigă, nici nu pierde azot, iar reacțiile anabolice sînt în echilibru perfect cu reacțiile catabolice.

Acest echilibru dinamic dintre cele două laturi antagonice ale metabolismului proteic (anabolismul și catabolismul) poate fi considerat pozitiv sau negativ numai dacă privim metabolismul proteic în general, întrucît bilanțul azotat poate fi pozitiv în condițiile pierderii de azot de către unele țesuturi și negativ în condițiile reținerii azotului de către alte țesuturi. Mai mult decît atît, în cazul unui echilibru azotat în care cantitatea de azot ingerat este egală cu cantitatea de azot excretat, pot exista unele țesuturi în stare de echilibru perfect, altele cu bilanț pozitiv, iar altele cu un bilanț negativ.

Echilibrul azotat este influențat de un număr foarte mare de factori, dar cei mai importanți sînt : cantitatea proteinelor ingerate, valoarea biologică și nutritivă a proteinelor alimentare, proteinele de rezervă ale organismului, ritmul biosintezei proteinelor celulare, cantitatea de glucide și de lipide ingerate și stările

Scanned with OKEN Scanner

fiziologice și patologice. În general, cantitatea de azot necesară menținerii echilibrului azotat la omul adult este, în medie, de aproximativ 5 g în 24 de ore, sau de 32 g de proteine de valoare biologică ideală (proteine care conțin toți aminoacizii esențiali în proporții determinate). Dar dacă ținem seama de faptul că aproximativ 10% din azotul ingerat sub formă de proteine se elimină prin fecale, că valoarea biologică a proteinelor ingerate nu este ideală, ci egală cu 70 din 100 de procente, cantitatea de proteine care trebuie ingerată zilnic de organismul uman adult pentru menținerea echilibrului azotat este practic mult mai mare, ea atingînd și depășind chiar 50 g în 24 de ore. Evident, sînt indivizi care necesită o cantitate mai mare, alții o cantitate mai mică de proteine pentru menținerea echilibrului în raport cu intervenția factorilor enumerați mai sus, implicați direct în menținerea echilibrului azotat.

Menținerea echilibrului azotat ar fi de neconceput fără un aport permanent de proteine alimentare care să acopere nevoile organismului în condiții determinate. Pentru ca cititorul să înțeleagă mai bine atît rolul determinant al proteinelor alimentare și valoarea nutritivă a acestora în echilibrul azotat, cît și mecanismele care stau la baza acestui echilibru, să facem o mică incursiune în domeniul teoriei actuale a metabolismului proteic. Așa cum am arătat la începutul capitolului, ne vom referi la un organism animal sau uman.

În 1905 Folin a stabilit că ingestia a 16 g de azot sub formă de proteine este urmată de eliminarea aceleiași cantități de azot, dar sub formă de uree, în proporție de 87,5%, iar restul pînă la 100%, sub formă de amoniac, creatinină, acid uric și alte substanțe azotate nedeterminate. Folin a stabilit de asemenea că în 24 de ore cantitatea de uree care se elimină prin urină variază în raport cu cantitatea de proteine ingerate și deci cu nivelul metabolismului intermediar al proteinelor. În același timp, el a demonstrat că cantitatea de creatinină eliminată în 24 de ore este independentă de cantitatea de proteine ingerată (azotul proteic ingerat) și de cea de uree eliminată prin urină (azotul ureic urinar). Aceste observații l-au condus pe Folin la ideea că metabolismul proteic are două componente principale, și anume : *metabolismul proteic endogen*, care ar fi prin excelență constant și ar avea ca rezultat formarea de creatinină, acid uric, sulfați, și *metabolismul proteic exogen*, care ar fi prin excelență variabil și ar duce la formarea de uree și de sulfați anorganici. Deși faptele demonstrate de Folin stau la baza teoriilor moderne asupra metabolismului proteic, to-

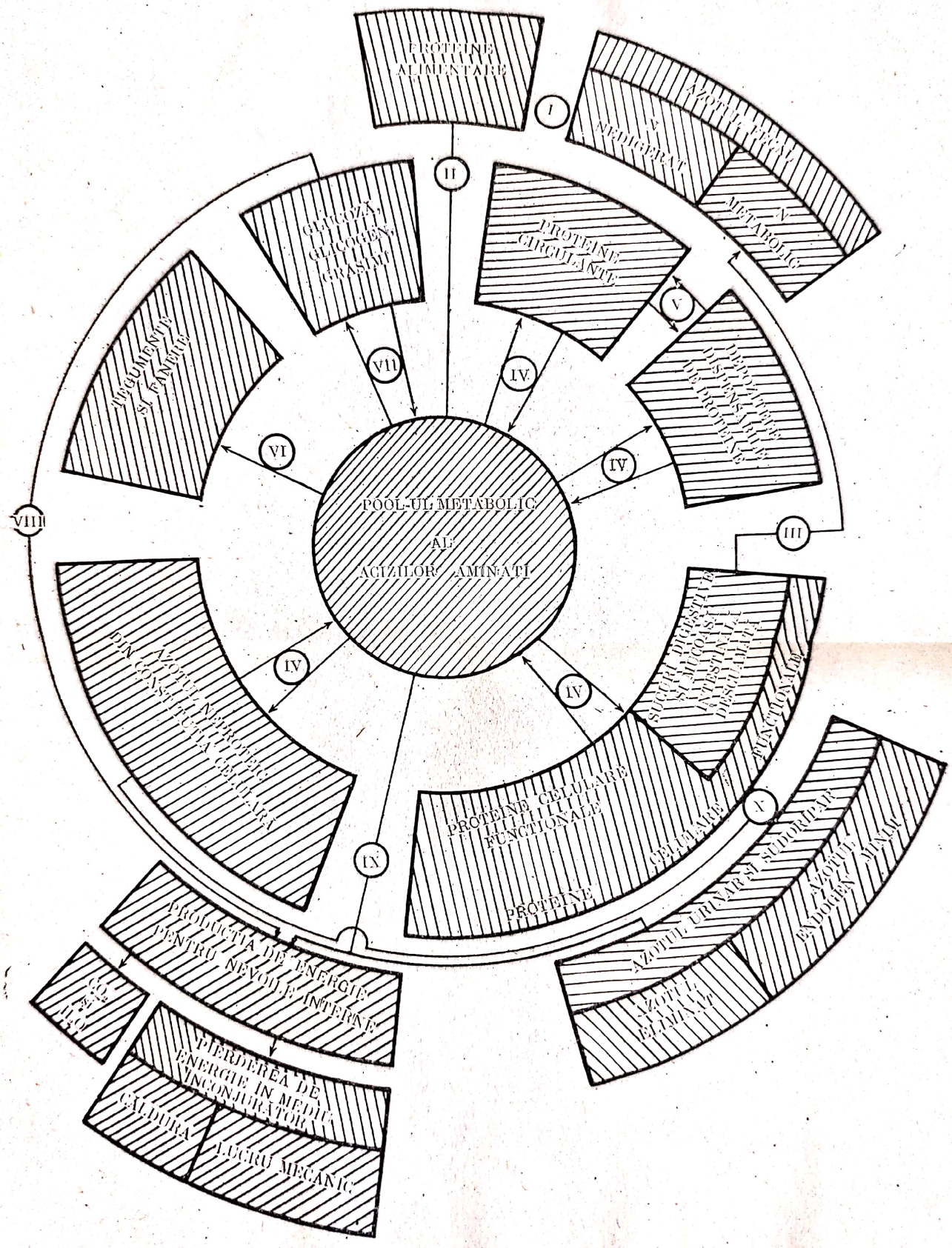
Scanned with OKEN Scanner

tuși teoria lui privește metabolismul proteic în mod static, rupe metabolismul endogen de cel exogen, și nu arată rolul proteinelor alimentare în formarea proteinelor proprii ale celulelor și țesuturilor.

Experiențe cu aminoacizi marcați cu azot radioactiv au arătat că proteinele din celule și din țesuturi se găsesc într-un echilibru dinamic, într-o permanentă stare de transformare, de descompunere și de resinteză. Aminoacizii proveniți din proteinele alimentare, în urma procesului de digestie și de absorbție, precum și aminoacizii eliberați din țesuturi în urma descompunerii proteinelor celulare iau parte la procese metabolice comune, ca : menținerea unei anumite concentrații a aminoacizilor liberi din plasmă și celule, sinteza proteinelor celulare și tisulare și catabolismul aminoacizilor disponibili. După cum se vede, în concepțiile moderne, care își găsesc expresia în așa-zisul *fond metabolic comun al aminoacizilor* (pool-ul aminoacizilor), proteinele unui țesut pot furniza aminoacizi pentru sinteza proteinelor unui alt țesut din același organism. Să vedem în ce constă fondul metabolic comun al azotului sau al aminoacizilor.

După definiția dată de Sprinson și Rittenberg în 1949, fondul metabolic comun al unui organism animal (organ sau celulă) constă într-un amestec de compuși proveniți fie din principii alimentare, fie din descompunerea țesuturilor, amestec pe care organismul animal îl folosește în scopul sintezei constituenților celulari și tisulari. Compușii azotați ai fondului metabolic comun formează *fondul metabolic comun al azotului*. Deși unii cercetători consideră că ureea poate fi folosită de organismul aflat în carență proteică drept sursă de azot pentru biosinteza proteinelor organismului, se admite totuși că ureea, creatinina și acidul uric, fiind produși de degradare ultimă și ireversibilă, se elimină din organism și nu contribuie la formarea acestui fond metabolic comun al azotului sau, mai bine zis, al aminoacizilor. În primul rînd, amintim proteinele alimentare, care prin descompunerea lor în tubul digestiv dau naștere la aminoacizi, formînd principala cale de aprovizionare acestui fond. Alături de acestea menționăm proteinele celulare, cele din lichidele organismului (sînge, limfă), pe cele de rezervă, precum și constituenții celulari neproteici, care conțin în molecula lor aminoacizi. Studii cu izotopi radioactivi au arătat că în cadrul fondului metabolic comun se produce un amestec între aminoacizii proveniți din proteinele alimentare și cei din proteinele proprii. În afară de proteine mai contribuie la formarea fondului metabolic comun al azotului și glucidele și lipidele. Așa cum vom vedea

Scanned with OKEN Scanner



42. Reprezentarea schematică a factorilor care contribuie la formarea fondului metabolic comun (*pool*-ului metabolic) al azotului (aminoacizilor) (după Mitchell)

mai departe, prin mecanismele metabolice aceste substanțe pot da naștere la aminoacizi și, invers, aminoacizii pot contribui la formarea de glucoză și de grăsimi. Proteinele din piele, unghii, păr copite nu contribuie la formarea fondului metabolic comun, ci consumă din acest fond. Într-adevăr, creșterea și regenerarea permanentă a cheratinelor din fanere și din epidermă are loc chiar în cazurile de aport proteic alimentar insuficient, pe seama proteinelor altor țesuturi, care prin descompunere hidrolitică furnizează aminoacizii necesari biosintezei proteinelor de protecție (în special aminoacizii cu sulf), pe calea fondului metabolic comun al azotului.

Pentru completarea tabloului factorilor care concurează la formarea și la menținerea fondului metabolic comun al azotului și pentru a întregi cele spuse la începutul capitolului despre echilibrul azotat, să spunem cîteva cuvinte despre căile de eliminare a azotului din organismele superior organizate. Eliminarea azotului din organismul animal se face prin fecale, urină, sudoare, fanere și epiteliul tegumentar descuamat. Prin fecale se elimină azotul fecal metabolic care își are originea în constituenții proteici ai sucurilor digestive care nu se mai absorb și în substanțele proteice provenite din celulele care se desprind (descuamează) de pe mucoasa gastrointestinală. Prin urină și sudoare se elimină în special produșii ultimi de degradare ai metabolismului azotat, și anume: ureca, creatinina, acidul uric și amoniacul. Prin fanere și prin epiteliul tegumentar, azotul se elimină sub formă de proteine de protecție (keratină) care se pierd o dată cu detașarea fanerelor. Înlocuirea azotului pierdut prin urină, sudoare, fecale și prin sinteza keratinei, alături de azotul necesar procesului de creștere, contribuie la menținerea balanței sau a echilibrului azotat. Cînd aportul de substanțe energetice este insuficient, cum ar fi, de exemplu, în cazul carențelor de lipide sau de glucide sau al creșterii cheltuielii de energie, metabolismul endogen al proteinelor crește, fapt care se soldează cu apariția creatinuriei, semn de perturbare a echilibrului azotat.

Înainte de a trece la prezentarea transformărilor pe care le suferă aminoacizii în celule și țesuturi, să ne oprim puțin asupra noțiunii de proteine de rezervă. S-a constatat că o parte din proteinele organismului, și în special albuminele din plasmă și din citoplasma celulelor țesuturilor moi, cresc și scad în funcție de creșterea sau de scăderea proteinelor alimentare ingerate. Acest fapt l-a făcut pe Whipple (1948) să le denumească proteine labile, de rezervă sau de depozit. Spre deosebire de grăsimi, care se depozitează în țesu-

Scanned with OKEN Scanner

tul adipos, sau de glucoză, care se depozitează sub formă de glicogen în ficat și mușchi, proteinele de rezervă nu sînt depozitate în compartimente speciale. Prin proteine de rezervă înțelegem proteinele celulare sau tisulare care contribuie la formarea fondului metabolic comun al azotului, eliberînd aminoacizi atunci cînd cantitatea de proteine alimentare scade sau extrăgînd aminoacizi atunci cînd cantitatea de proteine alimentare depășește cerințele menținerii echilibrului azotat. Spre deosebire de proteinele de rezervă denumite labile, proteinele stabile nu se descompun cu ușurință în aminoacizi în condiții de carență proteică. Este vorba în primul rînd de proteinele sistemului nervos, care sînt cele mai stabile, urmate apoi de proteinele mușchiului cardiac și ale țesutului renal. Proteinele țesutului hepatic sînt cele mai labile, ele descompunîndu-se și eliberînd aminoacizi în proporția cea mai ridicată. Așadar, proteinele organismului animal pot fi considerate labile sau stabile după ritmul și intensitatea descompunerii și resintezei lor în raport cu nevoile organismului, fără însă ca între aceste două feluri de proteine să existe diferențe din punctul de vedere al compoziției lor chimice.

Pentru sinteza proteinelor protoplasmatice, ca și pentru alte nevoi metabolice, organismul uman și cel animal are nevoie de cel puțin 20 de aminoacizi, din care opt sînt indispensabili sau esențiali (triptofanul, lizina, valina, leucina, izoleucina, metionina, treonina, fenilalanina). Acești aminoacizi intră în constituția proteinelor alimentare și sînt introduși în organism o dată cu hrana. Aproape toate alimentele consumate de om conțin, cu excepția unora, ca, de pildă, a zahărului și a uleiului comestibil, proteine. Cantitățile de proteine variază de la un aliment la altul. Dintre alimentele de origine animală, cele mai bogate în proteine sînt: laptele integral (3,4 g %), brînza (18—33 g%), carnea (20 g %), peștele (18 g %), crustaceele (18 g %), ouăle (13 g %), scoicile și stridiile (10—12 g %). Dintre cele de origine vegetală menționăm: leguminoasele, ca fasolea și mazărea uscate (23—35 g %), făina de soia (40 g %), cerealele (8—10 g %); oleaginoasele, în special turtele de soia, arahide, susan, bumbac (50 g%).

Capacitatea diferitelor proteine de a acoperi nevoile organismului în azot este în funcție de natura, cantitatea și proporția aminoacizilor care intră în constituția lor. Pentru ca acești aminoacizi să devină disponibili și utilizabili de către organism, este absolut necesară o preparare culinară adecvată a alimentelor, care să nu distrugă sau să neutralizeze acizii aminați sau să-i împiedice de a se

Scanned with OKEN Scanner

elimina din lanțul peptidic. *Valoarea nutritivă* a proteinelor alimentare este determinată de doi factori importanți, și anume : de *valoarea biologică* și de indicele proteic al surselor de proteine. Prin valoarea biologică a unei proteine înțelegem cantitatea de azot reținută de organism din totalitatea azotului ingerat sub formă de proteine în scopul construcției proteinelor proprii și a altor substanțe azotate din celule și țesuturi. Determinarea valorii biologice a unei proteine se face în raport cu proteinele din ou, care din punctul de vedere al valorii biologice sînt considerate aproape perfecte. Într-adevăr, din 100 g de azot provenit din proteinele oului, organismul uman adult reține între 94 și 97 g. Valoarea biologică a proteinelor variază de la un aliment la altul, în strînsă legătură cu cantitatea de aminoacizi esențiali sau indispensabili care intră în constituția acestora. Deci, dacă ne referim la proteinele din ou, valoarea biologică a cîtorva proteine este : fasolea 46, făina de grîu 42—70, făină de arahide 56—83.

În ceea ce privește *indicele proteic* al unei surse de proteine, acesta reprezintă raportul dintre compoziția în aminoacizi a proteinelor dintr-un aliment considerat și cea a unei combinații teoretice tip cu caracter optim. Diferitele alimente au indici proteici diferiți. Dacă se consideră combinația teoretică tip ca avînd indicele proteic 100 (100%), atunci alimentele trebuie să aibă indici proteici superiori cifrei 50 (50%) pentru ca ele să fie corespunzătoare cerințelor organismului, adică să asigure menținerea echilibrului azotat. În general, alimentele de origine animală au indicii proteici cei mai ridicați : oul 100, mușchiul de bou 83, ficatul de bou 84, laptele de vacă 78, cazeina din lapte 80, iar peștele 70. Proteinele de origine vegetală au indici proteici ceva mai mici : fasolea 47, mazărea 58, făina de soia 73, ovăzul 79, secara 80, orezul 72, făina de grîu 47, făina de porumb 70 etc.

Pentru ca echilibrul azotat să se mențină este necesar un aport minim de proteine introduse în organism o dată cu alimentele. Prin *minimul de proteine* se înțelege deci cantitatea cea mai mică de proteine necesară unui organism adult pentru menținerea echilibrului azotat în condiții fiziologice determinate, cu păstrarea unui aport adecvat al celorlalte principii alimentare (glucide, lipide, săruri, vitamine). Actualmente se consideră că minimul de proteine pentru un organism adult este, în medie, de 0,5 g/kilocorp în 24 de ore. Dacă valoarea biologică a proteinelor ingerate ar fi ideală, adică dacă proteinele ingerate ar conține toți aminoacizii esențiali în proporții și cantități optime, cerințele zilnice ale organismului

Scanned with OKEN Scanner

pentru proteine ar fi de numai 0,35 g/kilocorp. Minimum de proteine variază din punct de vedere cantitativ, pe de o parte, în funcție de particularitățile morfologice și fiziologice ale organismului (creștere, sarcină, lactație), iar pe de altă parte în raport cu valoarea biologică a proteinelor animale sau vegetale ingerate.

Nevoia de proteine reprezintă cantitatea de proteine necesară organismului în 24 de ore pentru acoperirea cerințelor sale metabolice. Nevoia zilnică de proteine variază în raport cu starea fiziologică a organismului și în special cu condițiile de muncă. Astfel, în cazurile de eforturi musculare susținute, cantitatea de proteine trebuie să ajungă pînă la 2 g/kilocorp în 24 de ore (yoshimura, 1961). De asemenea, diferite stări patologice, ca, de pildă, bolile febrile, infestațiile parazitare, convalescențele după afecțiuni grave, stările postoperatorii, fac ca nevoia de proteine a organismului să fie mult crescută. În condiții fiziologice normale, un organism adult de 70 kg are nevoie de circa 70 g de proteine dacă admitem că rația proteică este de 1 g/kilocorp. Această cantitate poate fi mai mică (pînă la 50 g) sau mai mare (pînă la 100 g) în raport cu diferiți factori : cantitatea de glucide și de lipide ingerate, sarcină, lactație, menstruație, efortul fizic și diferitele stări patologice etc.

Se știe că energia necesară activității vitale a celulelor și țesuturilor, inclusiv biosinteza proteinelor, provine în primul rînd din glucide și din lipide. Legat de aceasta, menținerea echilibrului azotat cere un aport alimentar de glucide și de lipide optim care să furnizeze energia necesară și să acopere nevoile calorice ale organismului. În condițiile unui aport redus de substanțe sub limita minimă, echilibrul azotat este tulburat. În asemenea condiții, organismul este nevoit să facă apel la degradarea proteinelor ingerate sau a proteinelor proprii pentru a se aproviziona cu energia necesară activității vitale a celulelor, în care caz nevoia de proteine crește. Sarcina atrage după sine o creștere a nevoii de proteine, determinată de mărirea de volum a uterului și de dezvoltarea fătului. Dezvoltarea normală a embrionului și puterea de apărare împotriva infecțiilor organismului matern depind în mare parte de cantitatea și de calitatea proteinelor alimentare. În perioada alăptării, nevoia de proteine rămîne încă crescută, deoarece organismul matern, secretînd 7—15 g de proteine pe zi în lapte, are nevoie de o cantitate mult mai mare de proteine decît un organism care nu alăptează. Menstrele produc la femeia normală pierderi mari de azot (1,5—3,3 g/zi). Azotul pe care îl pierde femeia de la pubertate pînă la menopauză ar putea să corespundă azotului

Scanned with OKEN Scanner

necesar biosintezei proteinelor întregului organism. În general, efortul fizic nu modifică echilibrul azotat și nici nevoia de proteine decît în anumite condiții. Astfel, o activitate musculară crescută în condițiile unui aport insuficient de glucide și lipide, care nu acoperă cheltuiala de energie a organismului, poate produce o excreție crescută de azot și deci un bilanț azotat negativ. Antrenamentul, din contra, determină un bilanț azotat pozitiv, deoarece în timpul acestuia masa musculară crește. Nevoia de proteine este crescută în ambele cazuri pentru ca echilibrul azotat să se mențină. Interesant că în timpul imobilizărilor la pat se observă, chiar la o persoană sănătoasă, că pierderile de azot cresc, iar bilanțul azotat devine negativ.

În afară de proteinele alimentare, care constituie principala sursă de azot, organismul animal mai folosește și o altă sursă, denumită endogenă. Aceasta este formată, pe de o parte, din proteinele secretate la nivelul tubului digestiv sub formă de mucus, sau cele provenite din celulele mucoasei digestive descuamate, iar pe de altă parte din posibilitățile organismului de a sintetiza aminoacizii neesențiali în cadrul metabolismului intermediar. Proteinele provenite din sucurile digestive și din celulele intestinale descuamate se reabsorb prin mucoasa intestinală sub formă de aminoacizi, o dată cu proteinele alimentare, contribuind astfel într-o mare măsură la menținerea echilibrului azotat. Cercetări moderne au arătat că cel puțin jumătate din cantitatea de aminoacizi liberi existenți în intestin după un prînz, mai mult sau mai puțin bogat în proteine provine din proteinele endogene. Folosindu-se proteine marcate cu izotopi radioactivi, s-a reușit să se determine la animale de experiență (cîini, șobolani) proporția de proteine endogene din intestin. Astfel, după administrarea de cazeină marcată, proteinele alimentare din tubul digestiv al cîinelui erau diluate de 19—61 de ori după zece ore de la ingestie. O consecință directă a participării proteinelor endogene la aprovizionarea organismului cu aminoacizi este faptul că amestecul de aminoacizi din intestin se menține în proporții constante, independent de compoziția alimentelor. Chiar în cazul unei alimentații predominant glucidică sau lipidică, compoziția amestecului și proporția diferiților aminoacizi din intestin rămîne neschimbată datorită tocmai proteinelor endogene care invadează intestinul. În felul acesta, chiar în cazul unui prînz sărac sau lipsit complet de proteine, mucoasa intestinală are posibilitatea să absoarbă aminoacizii esențiali necesari menținerii echilibrului azotat. Desigur, compoziția amestecului intestinal nu

Scanned with OKEN Scanner

va rămîne absolut constantă în condițiile unei carențe prelungite de aport proteic alimentar.

Tot ca sursă endogenă de aminoacizi ar mai putea fi considerat și procesul de biosinteză al aminoacizilor dispensabili sau neesențiali (glicocolul, alanina, acidul aspartic, acidul glutamic). Acești aminoacizi sînt sintetizați de către organism pornind de la precursori neazotați.

Soarta proteinelor în tubul digestiv

Proteinele alimentare ingerate, precum și cele provenite din activitatea secretoare a tubului digestiv (mucus, enzime, celule descuamate), sînt supuse unui proces de hidroliză enzimatică pînă la aminoacizi și peptide cu lanț scurt (di- și tripeptide), elemente care constituie forma sub care proteinele sînt absorbite în torentul circulator. Descompunerea proteinelor în elementele lor structurale, care are loc în tubul digestiv, reprezintă o treaptă obligatorie în lanțul reacțiilor metabolice, deoarece proteinele introduse în organism o dată cu alimentele nu pot intra niciodată în constituția țesuturilor fără o descompunere prealabilă. Cu alte cuvinte, organismul animal se folosește nu de proteine alimentare, ci de elementele lor structurale, adică de acizii aminați și, probabil, de polipeptidele cele mai simple.

Este bine cunoscut faptul că proteinele din natura vie se deosebesc între ele printr-o înaltă și strictă specificitate de specie și chiar de țesut. Astfel, albuminele și globulinele unor animale introduse direct în sîngele omului nu intră niciodată în compoziția serului sanguin, ci se comportă ca proteine eterogene, ca antigeni specifici. Fiecare specie, organ sau țesut conține proteinele sale specifice, pe care și le sintetizează din acizi aminați. Descompunerea substanțelor proteice în compuși mai simpli, privați de specificitatea de specie, capabili de a fi transferați în sînge prin peretele intestinal se realizează în tubul digestiv prin acțiunea succesivă a unei serii de enzime.

Segmentele tubului digestiv în care are loc descompunerea enzimatică a produselor alimentare sînt stomacul și intestinul subțire. Cavitatea bucală și esofagul nu pot constitui sedii ale digestiei proteinelor din lipsa enzimelor specifice, iar colonul își rezumă acti-

Scanned with OKEN Scanner

vitatea proteolitică asupra unor cantități foarte mici de proteine care au rămas nedigerate în intestinul subțire.

Digestia proteinelor la nivelul stomacului este condiționată de doi factori importanți, și anume de *acidul clorhidric* și *pepsina* din sucul gastric. Acidul clorhidric secretat de celulele mucoasei gastrice favorizează imbibiția proteinelor, ușurînd astfel acțiunea fermenților proteolitici și accelerînd în același timp procesul de descompunere hidrolitică a proteinelor. Importanța acidului clorhidric în descompunerea proteinelor alimentare constă nu numai în imbibiția proteinelor, ci și în aceea că prin condiționarea unui anumit pH activează fermentul proteolitic denumit pepsină. Rolul acidului clorhidric în activarea pepsinei reiese și din faptul că aceasta își încetează acțiunea asupra proteinelor dacă pH-ul crește de la 2 la 5—6. Hidroliza pepsică a unei proteine se traduce prin ruperea unui număr de legături peptidice și formarea unor peptide dializabile cu lanțuri scurte, în compoziția cărora intră, în medie, pînă la șapte acizi aminați.

Activitatea biocatalizatoare a pepsinei este foarte mare. Astfel, 1 g de pepsină cristalină (enzimă izolată și purificată) poate să descompună în două ore 60 kg de albuș de ou denaturat. În mod normal cantitatea de pepsină secretată de glandele stomacale ale omului în 24 de ore este de circa 2 g, ceea ce depășește cu mult necesitatea fiziologică a omului. Dar puterea de hidroliză a pepsinei nu este aceeași pentru toate proteinele ingerate. Așa, de exemplu, cheratinele și protaminele nu suferă modificări sub acțiunea pepsinei, dar colagenul, elastina și alte cîteva proteine de susținere se modifică numai printr-o acțiune îndelungată a acestei enzime. Astfel ne explicăm de ce aceste proteine, în cazul în care se găsesc în alimentele ingerate, nu pot fi folosite decît într-o măsură foarte mică de către organism.

Nu același lucru se întîmplă cu proteinele musculare, cu albuminele și globulinele. Aceste tipuri de proteine sînt ușor atacate de pepsină, devenind astfel asimilabile în totalitate de organisme.

Ca rezultat final al acțiunii combinate a acidului clorhidric și a pepsinei din sucul gastric asupra proteinelor ingerate se formează așa-numitele albumoze și peptone, care nu sînt altceva decît fragmente polipeptidice detașate din macromolecula proteică. Prin urmare, intestinul subțire va continua procesul de digestie, acționînd, pe de o parte, asupra fragmentelor polipeptidice rezultate din digestia gastrică, iar pe de altă parte asupra proteinelor care au trecut nedigerate prin stomac.

Scanned with OKEN Scanner

Intestinul subțire reprezintă organul în care se desăvîrșește procesul digestiei proteinelor alimentare prin acțiunea fermenților prezenți în sucul intestinal. Acesta din urmă conține un număr important de enzime, parte elaborate de pancreas, parte de glandele mucoasei intestinale. *Tripsina*, enzimă proteolitică elaborată de pancreasul exocrin, se găsește sub forma total inactivă, denumită tripsinogen, care devine activă sub acțiunea unei enzime produse de mucoasa intestinală, cunoscută sub numele de *enterochinază*. Tripsina descompune hidrolitic atît proteinele care nu au suferit modificări sub influența pepsinei, cît și polipeptidele rezultate din acțiunea hidrolitică a acesteia. Produsele principale ale hidrolizei tripsinice a proteinelor sînt, ca și în cazul hidrolizei pepsice, polipeptidele, la care se adaugă însă și acizi aminați.

Chimotripsina, o altă enzimă proteolitică, este secretată de glanda pancreatică. Ca și tripsina, ea derivă dintr-un precursor inactiv, denumit *chimotripsinogen*, care se transformă în enzimă activă sub acțiunea catalitică a tripsinei. Chimotripsina hidrolizează atît proteinele neatacate de pepsină și tripsină, cît și polipeptidele cu lanțuri mai mari, avînd drept urmare formarea de polipeptide cu molecule relativ mici. Această enzimă desface în special legăturile peptidice asupra cărora tripsina nu acționează. Într-adevăr, s-a constatat experimental că după tratarea cazeinei mai întîi cu tripsină și apoi cu chimotripsină, hidroliza acestei proteine continuă. În unele cazuri, chimotripsina produce o hidroliză mai profundă decît tripsina, desfăcînd aproape jumătate din numărul legăturilor peptidice din molecula proteică.

Prezența concomitentă a tripsinei și a chimotropsinei în sucul pancreatic, care după eliberarea și reactivarea lor în intestin se completează una pe alta, are drept rezultat hidroliza proteinelor și a polipeptidelor pînă la peptide cu moleculă mică. Descompunerea proteinelor pînă la aminoacizi este completată de alte enzime care acționează specific asupra anumitor legături. Astfel, carboxipeptidaza, enzimă elaborată de glandele intestinale, manifestă specificitate pentru legăturile peptidice vecine cu carboxilul terminal liber din molecula polipeptidului.

Aminopeptidazele sînt enzime secretate de glandele intestinului subțire, care desfac legăturile peptidice vecine cu gupările aminice terminale libere. Mucoasa intestinală conține mai multe aminopeptidaze, ca, de exemplu, leucinaminopeptidaza, tripeptidaza, prolidaza, prolinaza și protaminaza. Leucinaminopeptidaza manifestă o activitate specifică selectivă pentru peptidele în care radi-

Scanned with OKEN Scanner

calul R este un rest de leucină. Tripeptidaza desface legătura peptidică a tripeptidelor, iar dipeptidazele scindează legăturile peptidice ale dipeptidelor. Unele dintre aceste enzime, ca prolidaza și prolinaza, acționează specific asupra dipeptidelor care conțin în molecula lor prolină. Protaminaza desface arginina situată la extremitatea carboxilică terminală a protaminelor.

În ceea ce privește *digestia nucleoproteinelor*, acestea, după ce au suferit acțiunea tripsinei care le desface în proteine și acizi nucleici, sînt supuse mai departe acțiunii unui proces enzimatic, care desface macromolecula polimerică a acizilor nucleici în elementele lor structurale. Întrucît pînă în prezent nu se poate spune cu precizie dacă enzimele care descompun acizii nucleici acționează sau nu în intestin, ne vom rezuma numai la citarea acestor sisteme enzimatice. Este vorba de *ribonucleaze*, enzime care acționează în mod specific asupra acizilor ribonucleici, și de *dezoxiribonucleaze* care acționează asupra acizilor dezoxiribonucleici.

În colon (intestinul gros), procesul de digestie a proteinelor este practic lipsit de importanță, pe de o parte datorită cantităților mici de proteine care ajung în acest segment al tubului digestiv, iar pe de altă parte absenței fermenților specifici. Se știe că mucoasa colonului nu secretă enzime proteolitice, dar că populația microbiană din acest segment elaborează enzime proteolitice capabile să descompună micile cantități de proteine care au mai rămas nedescompuse în intestinul subțire, precum și proteinele secretate de mucoasa intestinală. Descompunerea acestor proteine la nivelul colonului sub acțiunea catalitică a enzimelor bacteriene este cunoscută sub numele de *putrefacție intestinală*. Microorganismele existente în colon aparțin unor specii foarte diferite, unele fiind aerobe, altele anaerobe. S-a calculat că o treime din masa fecalelor la om este reprezentată de corpi microbieni morți sau vii. Activitatea microbiană este maximă la nivelul cecului (primul segment al intestinului gros), descrescînd progresiv în restul colonului pe măsură ce materialul nutritiv scade și se produce deshidratarea materiilor fecale care influențează defavorabil multiplicarea bacteriilor ce populează această porțiune a intestinului.

Fenomenul de putrefacție intestinală se traduce în ultimă instanță prin acțiunea enzimelor bacteriene nu numai asupra proteinelor, ci și a elementelor lor structurale, și anume asupra aminoacizilor pe care bacteriile îi folosesc drept sursă nutritivă. Descompunerea acizilor aminați de către bacterii are drept rezultat trans-

Scanned with OKEN Scanner

formarea acestora în alte substanțe : amine, acizi grași, alcooli, fenoli, indoli, scatoli, hidrogen sulfurat, mercaptan și alți compuși.

Aminele sînt substanțe care rezultă din decarboxilarea acizilor aminați. Cele mai cunoscute sînt putresceina, care rezultă din ornitină, cadaverina din lizină, feniletilamina din fenilalanină și indoletilamina din triptofan.

Hidrogenul sulfurat și metilmercaptanul rezultă din descompunerea aminoacizilor care conțin în molecula lor sulf (cisteină). Fenolul și crezolul iau naștere din tirozină, prin îndepărtarea catenei laterale a acesteia de către enzimele microbiene. Indolul și scatolul iau naștere din triptofan. Ca și în cazul tirozinei, enzimele bacteriene atacă catena laterală a triptofanului pe care o înlătură : indolul și scatolul, la care se adaugă hidrogenul sulfurat și mercaptanul, determină mirosul caracteristic al scaunului.

Am văzut că în intestinul subțire proteinele alimentare sînt descompuse în elementele lor structurale (aminoacizi) sub acțiunea combinată a enzimelor proteolitice din sucul gastric, pancreatic și intestinal. În intestinul subțire, alături de aminoacizi se mai găsesc dipeptide, tripeptide și polipeptide, unele cu lanț scurt și greutate moleculară mică, altele cu lanț lung și greutate moleculară mare. Din acest amestec complex trec în sînge, traversînd mucoasa intestinală, aminoacizii liberi și cantități mici de peptide cu lanț scurt. După unii autori, intestinul copilului ar fi capabil să absoarbă proteine intacte, nedizolvate, ca ovalbumine. Forma de bază sub care se absorb însă proteinele sînt aminoacizii.

Fenomenul absorbției intestinale constă din procesul de transfer al unei substanțe nutritive (aminoacizi, glucoză, acizi grași, vitamine, săruri) din intestin în sînge. Întrucît procesul de absorbție intestinală este strîns legat de particularitățile structurale ale mucoasei intestinale, și în special de cele ale celulei absorbante, vom prezenta pe scurt aceste celule.

Microscopia electronică a adus date prețioase privitoare la structura celulei absorbante și la lămurirea rolului factorilor morfologici și funcționali care intervin în procesul de absorbție. În figura 43 sînt prezentate aspectele morfologice ale unei celule intestinale absorbante. După cum se vede, celula are formă cilindrică, cu nucleul situat la bază și cu polul superior prevăzut cu niște formații numite microvilozități, elemente structurale care la microscopul obișnuit au aspectul de margine de perie. Microvilozitățile polului superior al acestor celule au apărut ca rezultat al adaptării membranei celulare la funcția de element de interpoziție între mediul

Scanned with OKEN Scanner

extern (conținutul intestinal) și mediul intern (citoplasma celulei absorbante, capilarele sanguine și limfatice). Imediat sub microvilozități se află zona terminală a citoplasmei celulare, cu aspect fibrilar caracteristic.

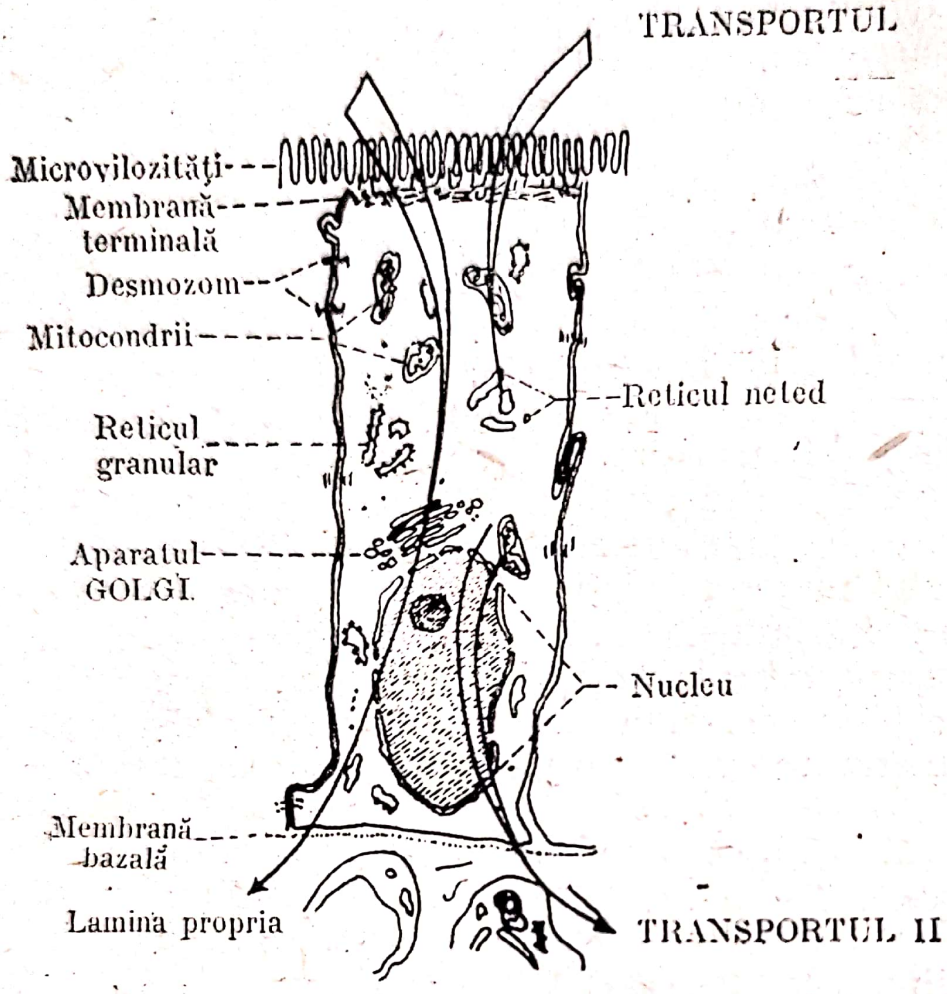
Celulele sînt legate între ele prin niște formații denumite desmozomi, care asigură solidaritatea cu celulele vecine. Mitocondriile sînt de diferite forme și mărimi (rotunde, filamentoase sau sub formă de bastonașe). Ele conțin unele enzime care intervin în metabolismul celular. Formațiile reticulare (reticulul endoplasmic) se prezintă sub două aspecte distincte : formații reticulare cu suprafață netedă (reticulul agranular) și formații reticulare cu suprafață granuloasă (reticulul granular). Datorită conținutului bogat în acizi ribonucleici, aceste formații se mai numesc și ribozomi. Reticulul endoplasmic deține rolul major în biosinteza și în stocarea diferiților compuși și în special a proteinelor. De asemenea ribozomii par să aibă un rol în transportul substanțelor de la o zonă a celulelor la alta. Aparatul Golgi ar reprezenta o specializare a reticulului endoplasmic, cu rol în stocarea unor substanțe elaborate sau absorbite pe celule.

Celula absorbantă este așezată pe o membrană bazală traversată de toate substanțele ce trec din intestin în sînge. Această membrană nu conține pori sau orificii, ea constînd, probabil, dintr-un strat fin de mucoproteine secretate de epitelii.

Trecerea aminoacizilor din intestin în sînge presupune traversarea acestor substanțe prin toate formațiile ce se interpun între suprafața microvilozităților celulelor absorbante și sîngele circulant din capilarele mucoasei intestinale, trecere care reprezintă tocmai procesul de absorbție. După Jacobs și colaboratorii (1963), procesul absorbției intestinale ar consta din două etape bine distincte : în prima, numită de autori transportul I, aminoacizii ar fi captați de celula absorbantă și trecuți în interiorul celulei; în cea de-a doua etapă, numită transportul II, aminoacizii sînt trecuți din celulă în sîngele din capilarele situate în mucoasa intestinului.

Mecanismul prin care se realizează trecerea aminoacizilor din intestin în sînge nu este pe deplin cunoscut. Cu toate acestea, cercetătorii au identificat o serie de factori capabili să influențeze absorbția aminoacizilor. Așa cum s-a mai arătat, configurația spațială sau configurația sterică a moleculei aminoacizilor are o deosebită importanță biologică, deoarece organismele superior organizate asimilează și metabolizează aproape în exclusivitate izomerii seriei L naturali ai acestor substanțe. Într-adevăr, s-a

Scanned with OKEN Scanner



43. Reprezentarea schematică a celulei absorbtive din epiteliul mucoasei intestinului subțire.

Trecerea aminoacizilor din intestin (mediul extern) în sînge (mediul intern) se face prin acest tip de celulă în două etape: I și II (după Trier și colab. și Jacobs și colab.)

constatat că, în timp ce L-aminoacizii se absorb printr-un mecanism activ cu consum de energie, D-aminoacizii sînt absorbiți mai ales printr-un mecanism pasiv, în care predomină procesele de difuzie. Între formele D și L există relații de inhibiție competitivă, adică prezența formelor L alături de formele D în intestin are drept rezultat o încetinire a absorbției D-aminoacizilor, condiționată de L-aminoacizi și invers. Astfel, de exemplu, L-metionina inhibă absorbția D-histidinei, iar D-metionina, cînd se află în concentrație mai mare, exercită și ea un efect inhibitor asupra L-histidinei, dar în măsură mult mai mică. Relații există și între aminoacizii aceleiași serii izomere. La concentrații echivalente, de exemplu, L-metionina poate inhiba complet absorbția L-alaninei și L-fenilalaninei. Prezența grupării aminice libere, necombinate, (NH_2)

Scanned with OKEN Scanner

în molecula aminoacizilor are un rol esențial în trecerea acestora prin peretele intestinal. Experimental s-a constatat că blocarea acestei grupări prin înlocuirea ambilor atomi de hidrogen cu diferiți substituenți determină o oprire a procesului de absorbție.

Procesul absorbției intestinale a aminoacizilor este, prin excelență, selectiv, adică nu se face în proporții egale pentru toți aminoacizii. Astfel, administrarea la șobolan a unui amestec de 18 L-aminoacizi în proporție echimoleculară este urmată de o absorbție în proporții diferite pentru fiecare aminoacid în parte, așa după cum urmează : metionina 84%, arginina 81%, izoleucina 80%, triptofanul 79%, leucina 78%, valina 77%, fenilalanina 71%, prolina 71%, tirozina 69%, lizina 63%, alanina 61%, histidina 59%, serina 57%, glicocolul 54%, treonina 51%, acidul aspartic 45%. În procesul de absorbție a aminoacizilor mai intervin și alți factori, asupra cărora nu ne oprim.

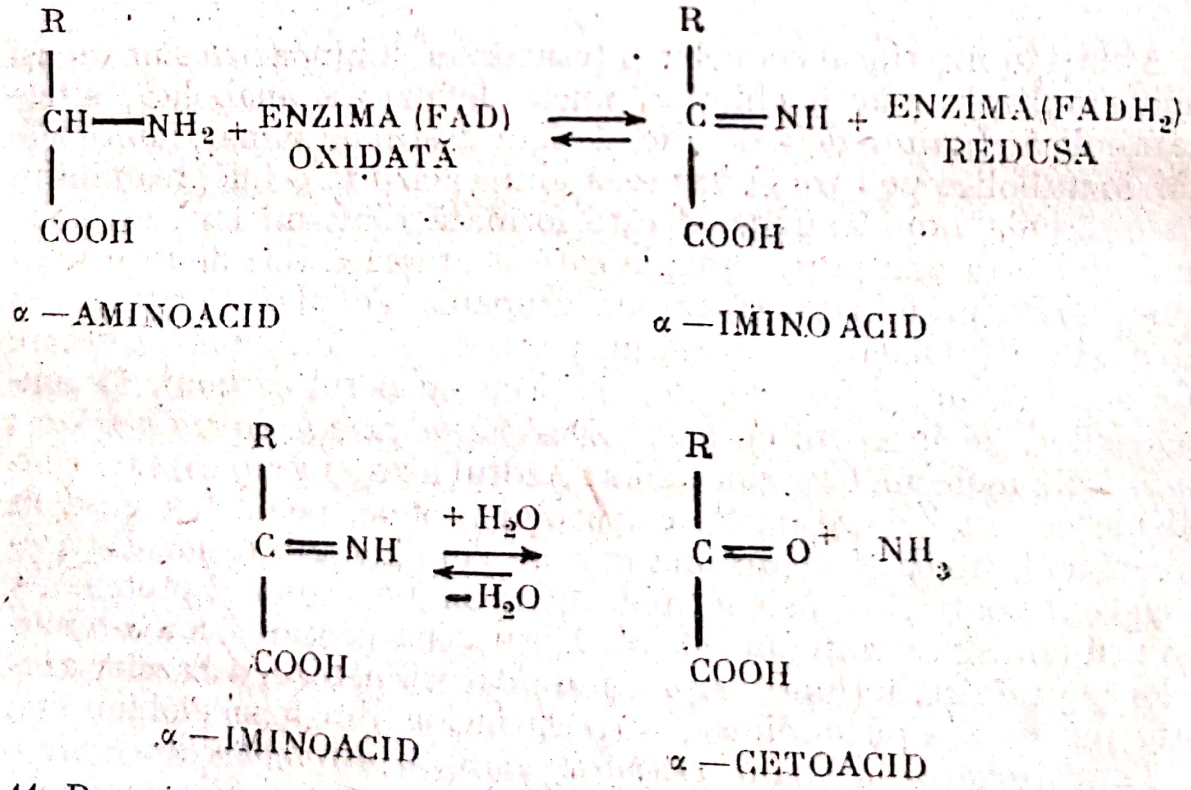
Transformările proteinelor în celule și țesuturi. Metabolismul intermediar al proteinelor

Ajunși în interiorul celulelor și țesuturilor, aminoacizii sînt supuși unor multiple reacții chimice, unele de natură anabolică, altele catabolică. Înainte de a descrie, desigur destul de sumar, multiplele căi metabolice pe care le urmează aminoacizii în celule, reamintim că molecula unui aminoacid este formată dintr-un lanț carbonic mai mult sau mai puțin lung, la care se atașează cele două grupări funcționale principale, și anume gruparea aminică (NH_2) și cea carboxilică (COOH). Să urmărim pe rînd ce se întîmplă cu fiecare din aceste grupări funcționale, cît și cu scheletul carbonic al aminoacizilor. Să începem cu *transformările pe care le suferă gruparea aminică* a moleculei aminoacizilor. Azotul acestei grupări, care constituie cea mai mare parte a azotului proteic, poate fi regăsit în amoniacul, ureea și creatinina care se elimină prin urină. De asemenea el poate fi regăsit în moleculele aminoacizilor și proteinelor proprii nou sintetizate, în cele ale hormonilor protidici, a așa-numitelor peptide cu acțiune asupra musculaturii netede, a bazelor azotate purinice și pirimidinice, a porfirinelor din hemoglobine etc.

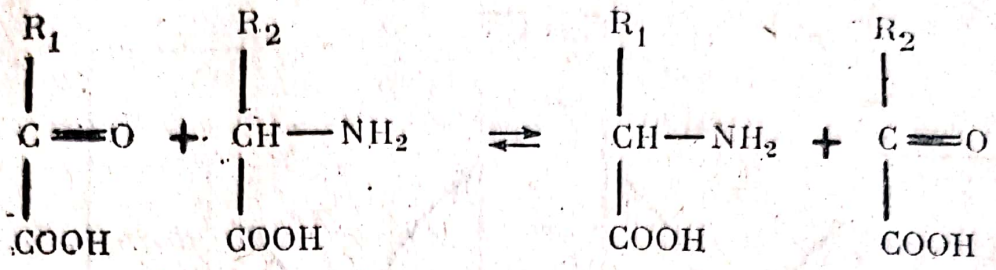
Transformarea azotului grupării aminice din molecula aminoacizilor în amoniac se realizează prin dezaminare și transaminare. Dezaminarea constă în îndepărtarea grupării aminice din molecula

aminoacizilor și transformarea acesteia în amoniac fie pe cale oxidativă, fie neoxidativă. *Dezaminarea* oxidativă se produce în două etape succesive : o primă etapă, în care este vorba de un proces de dehidrogenare enzimatică, cu formarea unui compus numit iminoacid, urmată de o a doua etapă, caracterizată prin hidroliza neenzimatică a iminoacidului, cu formarea unui cetoacid și amoniac. Reacțiile de dezaminare oxidativă sînt catalizate de aminoacidoxidaze. Dezaminarea este catalizată și de sisteme enzimatice, din care fac parte aminoaciddezaminazele (serindehidraza, treonindehidraza etc.).

Dintre aminoacidoxidazele cunoscute în natură, cea mai importantă este aminoacidoxidaza acidului glutamic, numită și glutamicdehidrogenaza. Această enzimă catalizează dezaminarea oxidativă a acidului glutamic, avînd drept rezultat formarea de amoniac și acid α-cetoglutaric. După cum se vede din fig. 44, reacția fiind reversibilă, este posibilă biosinteza unui aminoacid din cetoacidul corespunzător și amoniac. Vom vedea mai departe importanța acestei reacții, rolul ei în metabolismul azotat al mamiferelor. Într-adevăr, prin cuplarea acestei reacții cu reacțiile de transaminare



44. Dezaminarea oxidativă a aminoacizilor.
Se observă că formarea cetoacidului din aminoacid se realizează o dată cu formarea amoniacului



45. Reacția generală de transaminare. (Se observă că formarea cetoacidului din aminoacid se realizează fără apariția amoniacului)

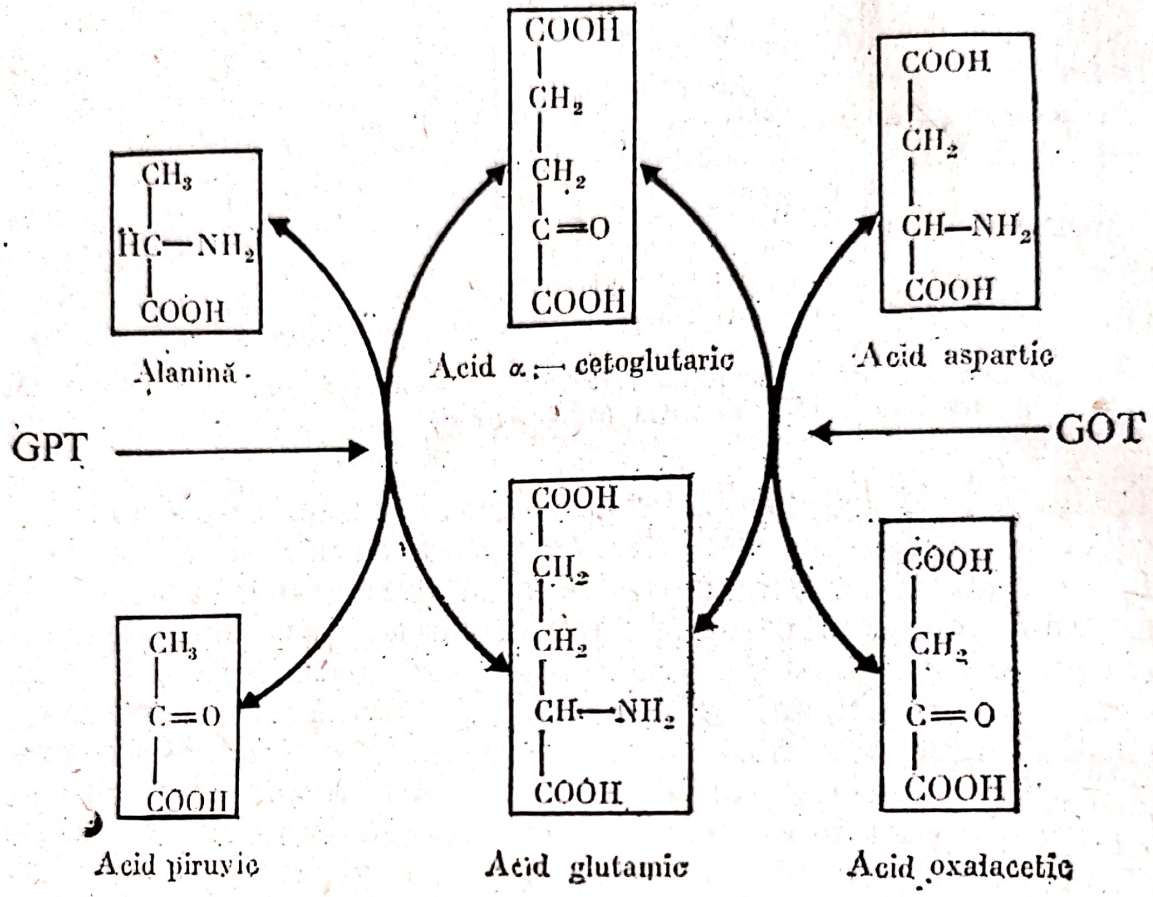
se formează acidul glutamic, iar acesta, prin dezaminarea oxidativă, duce la degradarea și, respectiv, la sinteza tuturor aminoacizilor.

Transaminarea constă în transferarea unei grupări aminice de la un aminoacid la un cetoacid, fără formarea intermediară de amoniac (fig. 45). Ea a fost descrisă pentru prima oară în 1937 de către Braunstein și Kritzman, care au arătat că această reacție este catalizată de aminotransferaze, aminoferaze sau, în terminologia modernă, transaminaze. Aceste enzime sînt foarte răspîndite în natura vie, putînd fi puse în evidență și la microorganisme. Dintre transaminazele cunoscute pînă în prezent, care de altfel sînt și cele mai răspîndite, fac parte transaminaza glutamic-piruvică și transaminaza glutamic-oxalacetică. Din figura 46 se poate observa că alanina, intrînd în reacție cu cetoacidul α-cetoglutaric, se transformă, sub acțiunea transaminazei glutamicpiruvice, în acid piruvic, adică în cetoacidul corespunzător. În același timp, cetoacidul α-cetoglutaric se transformă în aminoacidul corespunzător, adică în acid glutamic.

Compușii din figura 46, adică acidul glutamic și cetoacidul său (acidul α-cetoglutaric), acidul aspartic și cetoacidul său (acidul oxalacetic), împreună cu transaminazele amintite mai sus, joacă un rol primordial în transaminarea biologică. Deși mecanismele intime ale transaminării biologice nu sînt pe deplin lămurite, s-a demonstrat totuși că vitamina B_6, mai bine zis un derivat al acesteia (piridoxal-5-fosfatul), joacă rolul de acceptor și donator de grupare aminică.

Așa cum s-a mai spus, transaminarea biologică se află în strînsă legătură cu dezaminarea oxidativă a aminoacizilor. Într-adevăr, dezaminarea oricărui aminoacid din seria L nu se face direct, ci prin intermediul transaminării. Mai precis, la început are loc pro-

Scanned with OKEN Scanner



46. Activitatea catalitică a principalelor transaminaze din natura vie : GPT — transaminaza glutamic-piruvică; GOT — transaminaza glumatic -oxalacetică

cesul de transaminare a unui aminoacid oarecare, proces prin care gruparea aminică a acestuia este transferată acidului α-cetoglutaric, care se transformă în acid glutamic. La rîndul său, acidul glutamic este rapid dezaminat pe cale oxidativă prin intermediul glutamic-dehidrogenazei (GDH).

Din figura 47 se observă că azotul din gruparea aminică a alaninei apare în molecula de amoniac după ce a fost acceptat și donat de acidul α-cetoglutaric. După Braunstein, dezaminarea oxidativă a acidului glutamic cuplată cu transaminarea acestei componente reprezintă un mecanism important în transformarea (interconversiunea) unui aminoacid în altul și deci în întregul metabolism azotat.

Prin dezaminare, toți aminoacizii pot duce la formarea de amoniac. Acesta din urmă trece prin două căi metabolice principale, și anume participarea la procesele de biosinteză a unor substanțe azotate și eliminarea din organism sub formă de săruri de amoniu

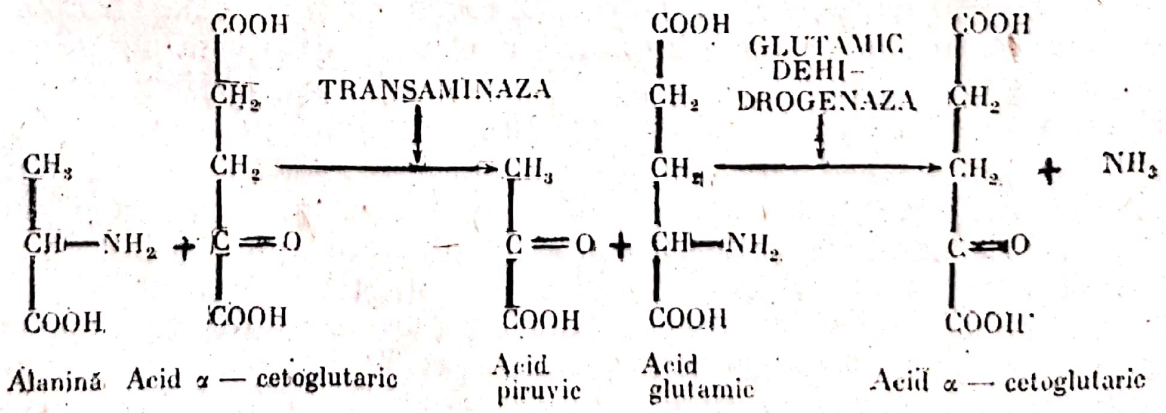
Scanned with OKEN Scanner

sau de uree. Amoniacul nu apare în stare liberă în sînge și în țesuturi decît în cantități extrem de mici, fiind foarte toxic mai ales pentru țesutul nervos. Datorită mecanismelor de inactivare a amoniacului în condiții normale, concentrația amoniacului liber din țesuturi și din lichidele din organism este foarte mică.

În raport cu forma de eliminare a azotului, organismele animale au fost grupate în trei mari categorii, și anume: amoniotelice, uricotelice și ureotelice. Prima categorie elimină azotul sub formă de amoniac, cea de-a doua sub formă de acid uric, iar cea de-a treia sub formă de uree. Diferențierea acestor trei tipuri de eliminare a azotului din materia vie este corelată cu natura mediului în care trăiește organismul respectiv. Astfel, nevertebratele acvatice sînt amoniotelice; nevertebratele terestre uricotelice, iar mamiferele ureotelice.

Transformarea azotului grupării aminice în uree nu reprezintă altceva decît o formă de inactivare și de detoxifiere a amoniacului rezultat din procesele de dezaminare a aminoacizilor în corpul mamiferelor. După cum se știe, ureea este în același timp un produs final de degradare a substanțelor azotate. Ansamblul reacțiilor biochimice care duc la formarea ureei constituie așa-numitul ciclu ureogenetic sau ciclul ornitinic, descris pentru prima dată de Krebs și Henseleit. Denumirea de ciclu ornitinic vine de la aminoacidul ornitină, care, alături de citrulină, arginină, acidul glutamic, acidul aspartic și glutanină, joacă rol de intermediar.

Ureea rezultă din combinarea directă a amoniacului cu bioxidul de carbon. Într-o primă fază se produce sinteza unui compus numit carbamilfosfat, la care participă amoniacul, bioxidul de carbon



47. Cuplarea transaminării cu dezaminarea, sistem de reacții de importanță primordială în metabolismul azotului. Rolul glutamic-dehidrogenazei

și acidul adenozintrifosforic (vezi planșa I). Carbamilfosfatul are în molecula sa o legătură puternic energetică. Enzima care catalizează reacția de formare a carbamilfosfatului se numește carbamilfosfatsintetază. Ea se găsește aproape în exclusivitate în ficat. Ulterior se produce formarea citrulinei printr-o reacție de condensare a ornitinei cu carbamilfosfatul, reacție catalizată de ornitincarbamiltransferază, prezentă de asemenea în ficat. La rîndul ei, citrulina se unește cu acidul aspartic utilizînd energia din ATP, formînd acidul arginino-succinic sub influența catalitică a arginino-succinicsintetazei prezentă în ficat, rinichi și creier. După cum se vede din planșa I, o dată cu formarea acidului arginino-succinic este introdusă în ciclul ureogenetic o a doua moleculă de amoniac, dar de data aceasta nu sub formă de amoniac liber, ca în cazul citrulinei, ci sub forma grupării aminice care se află în molecula acidului aspartic. Fără îndoială că azotul aminic din molecula acidului aspartic provine tot din amoniac, pe calea mecanismelor de aminare și transaminare. În continuare are loc formarea argininei prin descompunerea acidului arginino-succinic în arginină și acid fumaric sub acțiunea catalitică a argininsuccinliazei, prezentă în rinichi și ficat. Ultima treaptă a ciclului ureogenetic constă din descompunerea argininei în ornitină și uree sub acțiunea catalitică a arginazei, prezentă în concentrații foarte mari în ficat și în concentrații mai mici în rinichi.

Ciclul ureogenetic este strîns corelat cu ciclul acizilor tricarboxilici, cu procesele de biosinteză a bazelor pirimidinice și cu reacțiile de transaminare. Astfel, reacțiile intermediare ale ciclului ureogenetic își iau energia necesară din reacțiile de fosforilare oxidativă legate de ciclul acizilor tricarboxilici. Acidul fumaric reprezintă o componentă finală a ciclului ureogenetic și în același timp un produs intermediar al ciclului acizilor tricarboxilici, stabilind totodată legătura dintre degradarea acizilor aminați, acizilor grași și glucozei. Prin reacția de transcarbamilare, ciclul ureogenetic este legat de procesul de biosinteză a pirimidinelor. Într-adevăr, carbamilfosfatul poate fi utilizat atît în scopul sintezei citrulinei și mai apoi a argininei, cît și pentru sinteza pirimidinelor.

Acidul aspartic este aminoacidul care stabilește legătura dintre ciclul ureogenetic și reacțiile de transaminare, întrucît acesta joacă un rol de donator de grupare aminică pentru sinteza ureei. Datorită acestor conexiuni dintre ciclul ureogenetic și reacțiile de transaminare, grupările aminice ale tuturor aminoacizilor transaminabili pot pătrunde în ciclul ureogenetic. Chiar amoniacul liber poate

Scanned with OKEN Scanner

pătrunde în ciclul ureogenetic prin intermediul reacțiilor de aminare și transaminare, reacții ce se desfășoară sub controlul transaminazelor și al glutamicdehidrogenazei. Astfel, amoniacul se poate cupla cu acidul α-cetoglutaric, compus intermediar care face parte din ciclul acizilor tricarboxilici, formînd, sub acțiunea glutamicdehidrogenazei, acidul glutamic. Acesta din urmă, la rîndul său, prin transaminare cu acidul oxalacetic, transmite acestuia amoniacul, formînd acid aspartic. Acidul aspartic introduce mai departe azotul amoniacal, prezent în gruparea aminică, în ciclul acizilor tricarboxilici.

Prin urmare, acidul glutamic și acidul aspartic joacă un rol de prim ordin în inactivarea, eliminarea și transportul amoniacului. Așa cum am văzut, acidul glutamic introduce amoniacul în ciclul ureogenetic. Tot acidul aspartic, fixînd amoniacul, se transformă în asparagină, care la nivelul rinichiului este desfăcută în acid aspartic și amoniac, aceștia din urmă eliminîndu-se prin urină. Acidul glutamic fixează amoniacul, transformîndu-se în glutamină, care, ca și asparagina, constituie sursa principală de azot pentru celulele tubilor renali, unde se fabrică amoniacul destinat eliminării urinare. Glutamina are un rol deosebit de important în metabolismul azotului grupării aminice și al amoniacului. Comportîndu-se ca un acceptor și donator de grupări aminice și de amoniac, acest compus se formează din acidul glutamic și amoniac sub acțiunea catalitică a glutaminsintetazei, prezentă în creier și rinichi.

Glutamina din sînge — compus netoxic al amoniacului — constituie, pe de o parte, o formă de transport și, pe de altă parte, o formă de rezervă a amoniacului din organism. Se presupune că există chiar un ciclu al glutaminei în organism, care ar consta, pe de o parte, din formarea glutaminei la nivelul țesuturilor din acidul glutamic și amoniac eliberat prin dezaminare, iar pe de altă parte din descompunerea acestei substanțe vehiculate de sînge la nivelul ficatului și rinichiului în amoniac și acid glutamic. Amoniacul astfel format este transformat în uree sau este excretat în urină, după nevoile organismului.

Transformarea azotului din gruparea aminică în acid uric se face pe calea sintezei bazelor purinice, care ulterior se degradează pînă la acid uric. Această cale de transformare a grupării aminice din molecula aminoacizilor a fost demonstrată prin experiențe cu izotopi radioactivi (CO_2, glicocol, serină, acid formic).

După ce am trecut în revistă ceea ce se întîmplă cu gruparea aminică, mai bine zis cu atomul de azot al acestei grupări, să ve-

Scanned with OKEN Scanner

dem ce modificări suferă restul moleculei aminoacizilor, adică lanțul carbonic al acestora. Din multiplele transformări pe care le suferă lanțul carbonic, ne vom opri numai asupra descompunerii acestui lanț în bioxid de carbon și apă, cu degajare de energie, formării de glucoză din aminoacizii glucoformatori, precum și asupra formării de corpi cetonici.

Transformarea lanțului carbonic în CO_2 și H_2O este însoțită de eliberare de energie. Aminoacizii, ca și glucoza și acizii grași, eliberează energia potențială pe care o conțin în moleculă în cursul degradării treptate pînă la CO_2 și H_2O. Această degradare a lanțului carbonic se face în ciclul acizilor tricarboxilici. În planșa II sînt figurate reacțiile succesive ale acestui ciclu, ca și căile de pătrundere în el a glucidelor, lipidelor și proteinelor. Examinînd cu atenție această planșă, observăm că pătrunderea diferiților aminoacizi în ciclul Krebs se face pe căi diferite și la nivele diferite. Astfel, serina, glicocolul, alanina, treonina, triptofanul, metionina, cistina și cisteina, transformîndu-se în acid piruvic, pătrund în ciclul lui Krebs pe calea acidului acetic activat (acetil-CoA); fenilalanina și tirozina, transformîndu-se în acid fumaric, pătrund în ciclul Krebs prin intermediul acestui metabolit, iar izoleucina, valina, metionina și acidul α-aminobutiric, care se transformă în acid succinic, pătrund în ciclul lui Krebs prin intermediul acestui metabolit. În sfîrșit, arginina, prolina și hidroxiprolina, care se transformă în acid glutamic și mai departe în acid α-cetoglutaric, pătrund în ciclu prin intermediul acestui metabolit.

Practic, toți aminoacizii, sau, mai bine zis, lanțurile carbonice ale acestora, sînt metabolizați în ciclul acizilor tricarboxilici pînă la bioxid de carbon și apă. Deși glucoza și acizii grași sînt prin excelență substanțe cu rol energetic, aminoacizii reprezintă totuși o sursă importantă de energie, mai ales în lipsă de glucide, cînd aminoacizii nu numai că se metabolizează în ciclul Krebs, dar se transformă în glucoză, așa cum vom vedea ceva mai departe.

Energia din lanțul carbonic al aminoacizilor ce se degajează în timpul metabolizării acestora este înmagazinată în legăturile macroergice fosfatice de ATP. S-a calculat că în cazul oxidării glucozei și a acizilor grași în ciclul Krebs, spre exemplu, aproximativ 65% din energia chimică potențială conținută în molecula acestor substanțe este înmagazinată în legăturile macroergice fosfatice ale ATP, iar restul de 35% se transformă în căldură, care se pierde.

Scanned with OKEN Scanner

Transformarea lanțului carbonic în glucoză este o altă cale de metabolizare a aminoacizilor în celule și țesuturi. Se știe azi că glucoza și glicogenul pot lua naștere din proteine și grăsimi. La animale și la om, formarea de glucoză și apoi de glicogen are loc îndeosebi în ficat. Într-adevăr, ficatul transformă în glicogen nu numai glucoza provenită din glucidele alimentare, ci și o parte din produșii intermediari de degradare ai glucidelor, lipidelor și protidelor. În lumina cunoștințelor actuale despre relația dintre metabolismul glucidelor, lipidelor și protidelor, se poate admite că orice substanță care dă naștere acidului acetic activat și acidului piruvic sau altor acizi care sînt componenți ai ciclului Krebs reprezintă o sursă potențială pentru neoformarea de glucoză și glicogen. Într-adevăr, toți compușii enumerați mai sus pot da naștere la glucoză prin reversibilitatea reacțiilor biochimice care le-au dat naștere.

În ceea ce privește participarea aminoacizilor la procesul de formare a glucozei, este suficient să prezentăm căile prin care aceștia se transformă în glucoză (aminoacizii glucoformatori). După cum se vede din planșa II, glicocolul, alanina, serina, cisteina, cistina, treonina și triptofanul se pot transforma în glucoză fie pe calea acidului piruvic, fie pe cea a acetatului activ (acetil-CoA) care derivă din acidul piruvic. Leucina, izoleucina, fenilalanina și tirozina se pot transforma în glucoză pe calea acidului acetilacetic și a acetil-CoA. Fenilalanina și tirozina se transformă mai întîi în acid fumaric și apoi în glucoză. De remarcat că izoleucina se mai poate transforma în glucoză prin intermediul acidului propionic și apoi a acidului piruvic, ca și pe cea a acidului succinic. Acidul glutamic, arginina, prolina, hidroxiprolina și histidina se pot transforma în glucoză pe calea acidului α-cetoglutaric, care este tot un component al ciclului Krebs. În sfîrșit, valina și metionina se transformă în glucoză prin intermediul acidului succinic, iar acidul aspartic prin intermediul acidului oxalacetic. Prin urmare, proteinele servesc ca sursă de formare a glucozei și mai apoi a glicogenului prin aminoacizii glicoformatori care intră în compoziția lor. Acest fapt a fost demonstrat cu izotopii radioacivi. S-a calculat că 100 g de proteine pot da naștere la 58 g de glucoză.

Importanța biologică a transformării proteinelor și a lipidelor în glucoză este foarte mare. Așa se explică menținerea în limite normale a zahărului din sînge, cînd aportul de glucide este scăzut sau chiar suprimat. La om, de pildă, scăderea glucozei din sînge sub anumite limite (normal pînă la 1 g $^0/_{00}$) este incompatibilă cu viața.

Scanned with OKEN Scanner

Transformarea aminoacizilor în corpi cetonici reprezintă o cale de metabolizare numai pentru anumiți aminoacizi, și anume pentru tirozină, fenilalanină, leucină și, în parte, izoleucină. Acești patru aminoacizi, pentru motivul că prin metabolizarea lor pot da naștere corpilor cetonici, au mai fost numiți și *aminoacizi cetogeni* (planșa II). Corpii cetonici (acidul acetil acetic, β-hidroxibutiric și acetona), care iau naștere mai ales din grăsimi (acizi grași), servesc ca sursă de energie pentru diferite țesuturi, cum ar fi, de exemplu, mușchii. Ei sînt descompuși pînă la CO_2 și H_2O, după ce în prealabil au fost transformați în acetil-CoA. Locul de formare a corpilor cetonici în organismul animal este ficatul. Interesant este faptul că acest organ fabrică corpi cetonici, dar nu-i poate folosi mai departe din cauza lipsei enzimelor specifice, capabile să catalizeze reacțiile de oxidare a acestora. Formarea de corpi cetonici din aminoacizi are loc în special în cazul supraalimentării organismului cu grăsimi, a exercițiilor musculare prelungite și intense, a inaniției și a diabetului zaharat.

Am arătat mai înainte că gruparea aminică poate fi îndepărtată din molecula aminoacizilor prin reacțiile de dezaminare și transaminare, catalizate de enzime specifice. Același lucru se poate întîmpla și cu gruparea carboxilică din molecula aminoacizilor. Îndepărtarea carboxilului din molecula aminoacizilor poartă numele de *decarboxilare*. Reacția este catalizată de decarboxilaze și are ca rezultat formarea așa-numitor amine biogene.

Transformarea aminoacizilor în amine biogene reprezintă o cale importantă de metabolizare a acestora, dat fiind rolul deosebit pe care îl au aminele în fiziologia organismelor superioare. Astfel triptofanul, fenilalanina, tirozina și histidina se transformă, sub acțiunea decarboxilazelor specifice, în aminele corespunzătoare: serotonină, tiramină, histamină. Serotonina, amină biogenă provenită din triptofan, joacă un rol important in fiziologia țesutului nervos și în oprirea hemoragiilor. Tiramina, amină biogenă provenită din tirozină, are rol vasoconstrictor. Histamina se formează la nivelul țesuturilor din histidină prin decarboxilarea acesteia. Această amină are multiple roluri în organism, ea acționînd îndeosebi asupra musculaturii netede (crește intensitatea constricției) și a capilarelor sanguine (mărește permeabilitatea). Formarea de histamină ar însoți reacțiile care se produc între antigeni și anticorpi, de asemenea ea ar avea loc în stările alergice (șocul alergic).

Am urmărit pînă acum atît căile de transformare ale azotului din gruparea aminică, cît și cele ale scheletului carbonic din mole-

Scanned with OKEN Scanner

cula aminoacizilor. Aceste modalități fiind comune aproape tuturor aminoacizilor, vom prezenta în continuare căile de transformare a fiecărui aminoacid în parte. De la început trebuie să ținem seama de cîteva elemente care ne vor ajuta să înțelegem reacțiile chimice, destul de complicate, prin care aminoacizii se transformă la nivelul țesuturilor. În primul rînd, este vorba de interdependența indisolubilă dintre diferiții aminoacizi, de proprietățile acestora de a se transforma unul în altul, iar în al doilea rînd de interrelațiile metabolice dintre aminoacizi, glucoză și acizi grași, sau, mai exact între glucide, lipide, protide. Ne vom opri mai puțin asupra multiplelor etape intermediare prin care trec aminoacizii în transformările lor pentru a insista mai mult asupra interconexiunilor metabolice și a rolului substanțelor derivate din aminoacizi în fenomenele vitale.

Transformările glicocolului, serinei, alaninei și treoninei, ca și interrelațiile lor metabolice, sînt prezentate în planșa III. Din lectura acesteia reținem ca elemente de ansamblu transformarea serinei în glicocol și invers, participarea glicocolului la numeroase procese metabolice, căile de descompunere a acestor aminoacizi pînă la CO_2 și H_2O prin intermediul ciclului acizilor tricarboxilici.

Glicocolul participă la numeroase procese biochimice care se petrec în celule și țesuturi, deși ca structură este cel mai simplu aminoacid. El poate proveni din serină, treonină, sarcozină și acidul glioxilic. Prin pierderea grupării aminice (dezaminare), glicocolul se poate transforma în acid glioxilic, care la rîndul său se transformă în acid formic și oxalic. Ulterior acidul formic este descompus în CO_2 și H_2O, cu eliberare de energie. Transformarea glicocolului în CO_2 și H_2O poate avea loc și pe alte căi, și anume prin intermediul serinei în care se transformă glicocolul. Serina, la rîndul său, dă naștere acidului piruvic, apoi acetatului activ, care este oxidat în ciclul Krebs. Glicocolul participă la biosinteza protoporfirinelor. De asemenea, împreună cu arginina, el participă la biosinteza creatinei, substanță azotată care se găsește în mușchi și al cărui compus cu fosfor (fosfocreatina sau fosfagenul) joacă un rol deosebit în fenomenele chimice ale contracției musculare. Glicocolul se mai combină cu acidul colic din ficat, rezultînd acidul glicocolic, care se elimină o dată cu bila. Se mai combină cu acidul benzoic, dînd acidul hipuric, care se elimină prin urină.

Serina poate proveni atît din glicocol și acid formic, cît și din glucoză, mai bine zis din derivatul acesteia, acidul fosfopiruvic. Transformarea acidului fosfopiruvic în fosfoserină se face prin

Scanned with OKEN Scanner

transaminare. Serina participă, împreună cu acizii grași, la formarea lecitinelor și apoi a colinei și betainei, substanțe cu rol important în fiziologia organismului. Ea se poate transforma în glicocol, iar în glucoză se transformă pe calea acidului piruvic. Descompunerea serinei pînă la CO_2 și H_2O, cu eliberare de energie, se realizează prin intermediul acidului piruvic și al acetatului activ, care este oxidat în ciclul Krebs.

Alanina poate proveni din acidul aspartic, din triptofan și din acidul piruvic. Ea se descompune pînă la CO_2 și H_2O prin intermediul acidului piruvic, care se oxidează în ciclul acizilor tricarboxilici.

Treonina se transformă în glicocol și în glucoză. Descompunerea ei pînă la CO_2 și H_2O, cu eliberare de energie, are loc pe calea acidului propionic, care pătrunde în ciclul Krebs prin intermediul acidului succinic.

Transformările acidului glutamic, aspartic, ale argininei, histidinei, prolinei, hidroxiprolinei și lizinei sînt înfățișate în planșa I. Se observă în primul rînd că acidul glutamic ocupă o poziție centrală în metabolismul tuturor acestor aminoacizi, datorită legăturii pe care o stabilește cu ceilalți aminoacizi prin fenomenele de interconversiune. De asemenea, prin reacțiile de transaminare, el stabilește legătura cu celelalte metabolisme. În al doilea rînd putem observa căile de formare a ureei și amoniacului, legătura dintre ciclul ureogenetic și cel al acizilor tricarboxilici, legătură stabilită prin intermediul acizilor aspartic, arginino-succinic și fumaric. Se degajează cu ușurință modalitățile de formare, transport, depozitare și inactivare a amoniacului rezultat din metabolismul azotului aminic, sursele principale ale amoniacului sanguin, căile de pătrundere ale acestuia în ciclul ureogenetic, rolul acțiunii combinate a sistemului enzimatic transaminază-glutamic-dehidrogenază în captarea și transformarea amoniacului în uree. De asemenea se poate vedea rolul de intermediar comun în procesele de biosinteză ale ureei și ale bazelor pirimidinice pe care îl îndeplinește carbamilfosfatul. Să urmărim în continuare principalele căi de transformare a aminoacizilor din această grupă.

Acidul glutamic are o poziție centrală în metabolismul proteinelor, stabilind totodată legătura cu metabolismul lipidic și glucidic. El poate lua naștere în celule și țesuturi din arginină, prolină, hidroxiprolină și histidină, dar se mai poate forma și din acidul α-cetoglutaric fie prin transaminare, ca ceilalți aminoacizi, fie prin aminare directă a acidului α-cetoglutaric sub acțiunea catalitică a glutamicdehidrogenazei. Acidul glutamic se poate transforma

Scanned with OKEN Scanner

în CO_2 și H_2O, cu eliberarea de energie, prin intermediul acidului α-cetoglutaric, care este oxidat în ciclul acizilor tricarboxilici. Acidul α-cetoglutaric ia naștere din dezaminarea acidului glutamic sub acțiunea catalitică a glutamicdehidrogenazei :

$$\text{acid glutamic} + H_2O \rightleftarrows \text{acid } \alpha\text{-cetoglutaric} + NH_3$$

Sistemul enzimatic al glutamicdehidrogenazei și al transaminazelor are un rol fundamental în transformările metabolice ale aminoacizilor. Într-adevăr, prin acțiunea conjugată a celor două sisteme enzimatice, azotul aminic din molecula celor mai mulți aminoacizi este îndepărtat și combinat prin transaminare cu acidul α-cetoglutaric, rezultînd acidul glutamic. Acidul α-cetoglutaric este în continuă regenerare prin dezaminarea oxidativă a acidului glutamic sub acțiunea catalitică a glutamicdehidrogenazei. Prin decarboxilare, acidul glutamic se transformă în acid γ-aminobutiric. Îndepărtarea grupării carboxilice din molecula acidului glutamic și formarea acestui derivat au loc în special la nivelul țesutului nervos, datorită glutamicdecarboxilazei. Atît acidul glutamic, cît și derivatul său, acidul γ-aminobutiric, împreună cu serotonina și acetilcolina, au o deosebită importanță în activitatea sistemului nervos central.

O altă cale de transformare a acidului glutamic este combinarea sa cu amoniacul și formarea de glutamină, compus cu rol fiziologic important în inactivarea și transportul amoniacului mai cu seamă la nivelul țesutului nervos. Combinarea amoniacului cu acidul glutamic este o reacție enzimatică care se desfășoară sub acțiunea glutaminsintetazei. Glutamina, ca și acidul glutamic, are un rol deosebit în celule și țesuturi, participînd la biosinteza aminoacizilor, purinelor, aminozaharurilor etc., prin proprietatea de donator de grupare aminică.

Acidul aspartic deține, ca și acidul glutamic, un rol important în metabolismul proteinelor, intervenind în procesele de transaminare și participînd la biosinteza nucleotizilor. El provine din acidul oxalacetic, compus al ciclului acizilor tricarboxilici. Descompunerea acidului aspartic pînă la CO_2 și H_2O, cu eliberare de energie, are loc prin intermediul acidului fumaric, care este oxidat mai departe în ciclul Krebs.

Arginina ia naștere din citrulină și acid aspartic atît pe calea acidului argininosuccinic, cît și în cadrul ciclului ureogenetic. În același timp, ea poate fi descompusă de către arginază în ornitină și uree. Arginina participă la biosinteza creatinei, a ornitinei și

Scanned with OKEN Scanner

a citrulinei. Capacitatea țesuturilor de a sintetiza arginina este limitată, de aceea aportul alimentar al acestui aminoacid este indispensabil mai ales în perioada de creștere.

Histidina se transformă în acid glutamic și histamină. Degradarea ei pînă la CO_2 și H_2O se face fie prin intermediul acidului glutamic și în continuare a acidului α-cetoglutamic, fie prin intermediul acidului formic. Histidina este un aminoacid esențial numai pentru un organism animal în creștere și neesențial pentru organismul adult, deoarece ea poate lipsi complet din rația alimentară a acestuia, fără ca echilibrul azotat să sufere. Transformarea histidinei în histamină se realizează prin decarboxilarea histidinei prin intermediul unei decarboxilaze specifice. Histamina este transformată mai departe în alți compuși care se elimină prin urină.

Prolina provine din ornitină și acid glutamic. Descompunerea ei pînă la CO_2 și H_2O se face după ce a fost transformată în acid glutamic și apoi în acid α-cetoglutaric, care se metabolizează ulterior în ciclul lui Krebs.

Hidroxiprolina derivă, ca și prolina, din acidul glutamic și ornitină. Ea se transformă fie în acid glutamic, fie (prin intemediul acidului hidroxiglutamic) în acid piruvic și apoi în alanină.

Lizina participă în mică măsură la interconversiile metabolice cu ceilalți aminoacizi. Căile de transformare ale lizinei la nivelul celulei și țesutului sînt puțin cunoscute; ea poate fi oxidată în ciclul lui Krebs pe calea acidului glutaric, transformîndu-se apoi în acid α-cetoglutaric.

Transformările valinei, izoleucinei, leucinei, fenilalaninei și tirozinei pot fi urmărite în planșa IV.

Valina este transformată în celule și țesuturi în acid propionic, care, la rîndul său, se transformă în acid succinic. Acesta face parte din ciclul acizilor tricarboxilici, intrînd astfel în circuitul oxidării pînă la bioxid de carbon și apă. Interesant este că un aport insuficient de valină determină la animalul de experiență scăderea poftei de mîncare, stagnarea creșterii, sensibilitate exagerată la atingere și tulburări profunde în coordonarea mișcărilor.

Leucina se transformă în organism în corpi cetonici, care sînt apoi metabolizați în ciclul acizilor tricarboxilici pînă la bioxid de carbon și apă. Prin produsul său intermediar de degradare (β-hidroxi-β-metilglutaril-coenzima A, HMG-CoA), leucina stabilește legătura dintre metabolismul proteinelor și cel al sterolilor (colesterolului). Studii cu izotopi radioactivi au demonstrat că HMG se

Scanned with OKEN Scanner

transformă atît în acid acetilacetic (corp cetonic) și acid acetic. cît și în acid mevalonic și apoi în colesterol.

Izoleucina se transformă în acid acetilacetic, acetic și propionic. Acești compuși intermediari sînt descompuși apoi în CO_2 și H_2O în ciclul Krebs. Izoleucina dă naștere atît corpilor cetonici, cît și glucozei.

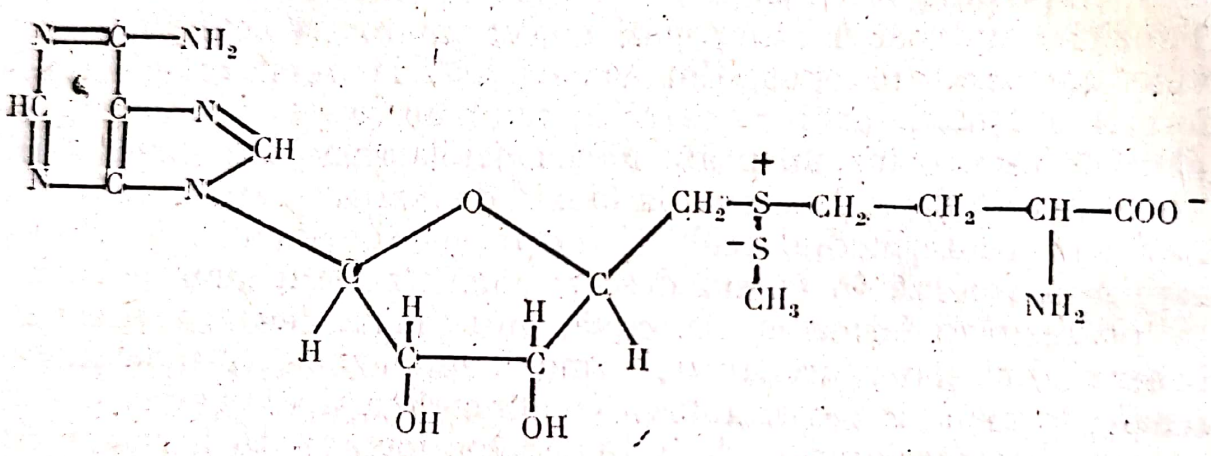
Fenilalanina și *tirozina* suferă în celule și țesuturi trei mari categorii de transformări : transformarea în corpi cetonici și glucoză, transformarea în hormoni (hormoni suprarenali și tiroidieni) și transformarea în pigmenți. Fenilalanina este un aminoacid esențial glucoformator și cetogenic. Ea se poate transforma în tirozină, etapă obligatorie în metabolismul intermediar al fenilalaninei. Tirozina, aminoacid neesențial, glucoformator și cetogenic, provine, așa cum am spus, din fenilalanină. De remarcat că transformarea fenilalaninei în tirozină, fiind un proces ireversibil, explică de ce tirozina nu poate înlocui fenilalanina din alimentație. Tirozina este degradată pînă la bioxid de carbon și apă în ciclul lui Krebs prin intermediul acidului fumaric și al acidului acetilacetic, care se formează în cursul descompunerii acestui aminoacid. Ea se poate transforma în tiroxină, principalul hormon tirodian, în adrenalină și noradrenalină, hormonii din medulara glandei suprarenale, în melanină și tiramină. Noradrenalina și adrenalina se mai numesc și catecolamine, ele putînd fi considerate atît hormoni, cît și amine biogene. Catecolaminele sînt foarte răspîndite în țesuturile animalelor superioare. Ele au fost puse în evidență și în unele plante (spre exemplu în banan). Dintre țesuturile capabile să transforme fenilalanina și tirozina în catecolamine fac parte glanda suprarenală, și anume partea medulară a acesteia, parte din nucleele de la baza creierului și unele terminații nervoase.

Transformările aminoacizilor care conțin sulf, adică a cisteinei, cistinei și *metioninei*, sînt rezumate în planșa V, din care se poate vedea interconversiunea cisteină—cistină—metionină, participarea metioninei la procesele de transmetilare biologică, transformarea cisteinei în acid piruvic, căile de pătrundere a aminoacizilor sulfurați în ciclul acizilor tricarboxilici, transformarea sulfului organic în sulf anorganic, formarea acidului taurocolic .etc.

Metionina are o deosebită importanță biologică, deoarece derivatul său activ, numit S-adenozilmetionină, participă la procesul de metilare biologică. Să vedem în ce constă acest proces. Celulele și țesuturile sintetizează un număr important de substanțe care conțin în molecula lor gruparea metil (CH_3), ca, de exemplu,

Scanned with OKEN Scanner

colina, adrenalina, metilnicotinamida etc. Metionina participă la reacțiile de transmetilare ca donator de grupare metilică, transmetilarea constînd în mobilizarea grupărilor metilice labile și transferul lor din molecula de metionină în molecula altor substanțe. În reacțiile de transmetilare intervine ca furnizor de energie acidul adenozintrifosforic. În figura 48 este prezentată forma activă a metioninei, care poate ceda gruparea metilică unui acceptor oarecare. Se observă că S-adenozilmetionina conține în structura sa o legătură puternic energetică (12 000 de calorii/mol), care se stabilește între atomul de sulf și gruparea metilică. Dintre reacțiile biochimice la care participă metionina sub forma sa activă,



48. Structura formei active a metioninei (S-adenozinmetionina).
Se observă că între gruparea metilică labilă (CH_3) și atomul de sulf (S) din molecula metioninei există o legătură macroergică

amintim doar cîteva, și anume: formarea creatinei, lecitinei, colinei, epinefrinei și metilnicotinamidei. Metionina poate fi degradată pe calea acidului homocisteic în acid α-cetobutiric și mai departe în bioxid de carbon și apă.

Cisteina și *cistina* — aminoacizi neesențiali și glucoformatori pot proveni din metionină. Cistina nu reprezintă altceva decît forma oxidată a cisteinei, acești doi aminoacizi transformîndu-se cu multă ușurință unul în altul sub acțiunea unei enzime reductoare, numită cisteinreductaza. Transformarea cisteinei în cistină este de mare importanță biologică, întrucît, în afară de rolul oxidoreductor al acestei reacții de interconversie, prezența legăturilor disulfurice (-S-S-) în molecula proteinelor determină unele particularități în structura acestora. Cisteina se transformă în acid piruvic și pe această cale este degradată în ciclul lui Krebs

Scanned with OKEN Scanner

pînă la CO_2 și H_2O. Din oxidarea cisteinei rezultă sulfatul anorganic, care, activat de către ATP, participă la așa-zisele reacții de sulfoconjugare care se petrec la nivelul ficatului și care au drept rezultat neutralizarea unor compuși toxici.

Transformările triptofanului sînt înfățișate în planșa VI. Triptofanul, aminoacid esențial și glucoformator, se transformă la nivelul celulelor și țesuturilor în acid nicotinic, serotonină și triptamină. Formarea de acid nicotinic și nicotinamidă reprezintă calea principală de transformare a triptofanului în organism. Se știe că acidul nicotinic, și mai ales nicotinamida, este un factor care previne apariția pelagrei. Serotonina, amină biogenă, ia naștere din triptofan prin decarboxilarea acestuia. Așa cum s-a arătat mai înainte, acest derivat al triptofanului are o mare importanță în fiziologia sistemului nervos.

Acizii nucleici sînt în permanență descompuși și sintetizați la nivelul tuturor țesuturilor. Descompunerea acizilor nucleici se realizează sub influența unor enzime, printre care amintim: ribonucleaza, care descompune acidul ribonucleic, dezoxiribonucleaza, care descompune acidul dezoxiribonucleic, nucleotidaza, care descompune nucleotizii, și nucleozidaza, care descompune nucleozidele. Efectul acțiunii combinate a acestor multiple sisteme enzimatice are ca rezultat final desfacerea macromoleculei acizilor nucleici în fragmente moleculare din ce în ce mai mici. În cele din urmă, acizii nucleici sînt descompuși în elementele de bază pe care le cunoaștem: bazele azotate (adenina, guanina, citozina, uracilul, timina), pentozele (riboza, dezoxiriboza) și acidul ortofosforic. Fiecare dintre aceste unități urmează calea lor proprie de transformare. Să vedem acum care sînt aceste căi.

Bazele purinice, adică adenina și *guanina*, sînt transformate fie în acid uric (omul și maimuțele antropoide), fie în alantoină. Această transformare se face prin intermediul unor multiple reacții enzimatice. Cele două baze purinice sînt supuse mai întîi unui proces de dezaminare hidrolitică, cu formarea hidroxipurinelor corespunzătoare. Azotul aminic astfel îndepărtat intră în ciclul ureogenetic, formînd uree, sau se elimină sub formă de săruri. Hipoxantina și xantina care iau naștere din dezaminarea hidrolitică a bazelor purinice sînt supuse ulterior unui proces de oxidare, care are drept urmare formarea acidului uric. Deși în sîngele și în urina animalelor uricotelice se găsesc și ceilalți derivați purinici, adică adenina, guanina, hipoxantina și xantina, acidul uric este considerat însă ca singurul derivat purinic important care se elimină prin

Scanned with OKEN Scanner

urină, deoarece ceilalți derivați enumerați se elimină în cantități foarte mici. S-a constatat că acidul uric, ca produs ultim de degradare a nucleoproteinelor, se formează chiar în condițiile unui regim alimentar sărac în acizi nucleici, ceea ce arată că există o sursă endogenă de acid uric în afară de cea exogenă care își are originea în nucleoproteinele provenite din alimente. Producția endogenă de derivați purinici, și în special de acid uric, este foarte crescută în unele boli (leucemii, tumori maligne, iradieri etc.).

Bazele pirimidinice (citozina, uracilul și timina) sînt foarte repede descompuse în celule și țesuturi. Ca rezultat al acestei descompuneri, în organismul mamiferelor se formează ureea și acidul oxalic. Citozina se transformă mai întîi în uracil, care, la rîndul său, este oxidat pe calea acidului izodialuric și oxaluric pînă la uree, acid oxalic și acid formic. Timina se transformă în acidul α-aminoizobutiric, a cărei soartă ulterioară nu este încă suficient cunoscută.

Pentozele (riboza și dezoxiriboza) sînt transformate în celule și țesuturi pe calea așa-numitului ciclu de reacții al pentozofosfaților și cea a acizilor uronici. Ciclul pentozofosfaților constă, pe de o parte, în reacții de transformare a pentozelor în hexoze, iar pe de altă parte al hexozelor în pentoze.

Biosinteza proteinelor, baza autoreproducerii, a eredității și a variabilității

În cele expuse mai sus au fost prezentate aspectele esențiale ale catabolismului proteic. Să vedem în continuare în ce constau concepțiile moderne despre anabolismul proteic, despre biosinteza proteinelor și a acizilor nucleici, despre bazele moleculare ale autoreproducerii materiei vii.

Reproducerea, proprietate fundamentală a materiei vii, constă în însușirea pe care o au organismele de a da naștere altor organisme, asigurîndu-se astfel perpetuarea speciilor și permanența biosferei. Autoreproducerea materiei vii, fie că este vorba de organisme acelulare, fie celulare, persupune sinteza acelor substanțe fără de care materia vie nu poate exista, și anume proteinele, acizii nucleici hidrații de carbon (glicogen, amidon, celuloză), grăsimile, hormonii și vitaminele. Evident că, dintre toate aceste substanțe, nucleoproteinele sînt cele mai importante în autoreproducere, întrucît prin proprietatea de a se reduplica a acizilor nucleici și prin activi-

Scanned with OKEN Scanner

tatea biocatalitică a enzimelor sînt controlate toate procesele metabolice cu caracter anabolic și catabolic care formează bazele moleculare ale vieții.

Biosinteza proteinelor și a acizilor nucleici reprezintă astăzi problema fundamentală a biochimiei și biologiei moderne, mecanismul de formare a acestor compuși fiind cheia înțelegerii multor procese vitale.

Acizii nucleici macropolimeri ai mononucleotizilor sînt sintetizați sub controlul unor sisteme enzimatice încă puțin cunoscute. Recent s-a pus în evidență o enzimă numită polinucleotidfosforilaza, care ar cataliza biosinteza acizilor ribonucleici cu greutate moleculară mare. Această enzimă ar fi capabilă să sintetizeze dintr-un amestec de acizi — adenozindifosforic, uridindifosforic, guanozindifosforic și citidindifosforic — un polinucleotid macromolecular foarte apropiat în ceea ce privește proprietățile fizico-chimice de acidul ribonucleic natural. De asemenea s-a constatat că această enzimă poate sintetiza polinucleotizi din mononucleotizi de unul sau două tipuri. Nu se cunoaște însă mecanismul prin care polinucleotidfosforilaza reușește să sintetizeze polinucleotizii. Pe de altă parte, cercetările moderne au arătat că acizii ribonucleici se sintetizează în organismul viu nu numai printr-o simplă polimerizare a nucleoziddifosfaților sub acțiunea enzimelor de tipul polinucleotidfosforilazei, ci printr-un mecanism mult mai complex, în care intervine ADN și ARN alături de nucleozidtrifosfați.

Acidul dezoxiribonucleic s-ar sintetiza din dezoxinucleozidtrifosfați sub acțiunea polimerazei și în prezența unui acid dezoxiribonucleic inițiator, care ar avea rolul de matrice, numit și ADN-primer sau inițiator. În structura acizilor nucleici ar intra cele patru nucleotide diferite, care s-ar înlănțui într-o ordine bine determinată în raport cu matricea polinucleotidului acceptor sau primer.

La rîndul lor, atît nucleotizii purinici, cît și cei pirimidinici sînt sintetizați sub controlul unor sisteme enzimatice specifice. Adenina și guanina (bazele azotate) sînt sintetizate în organism din glicocol, acid formic, bioxid de carbon, acid aspartic și glutamină. Riboza și dezoxiriboza (pentozele) provin din metabolismul glucozei, iar acidul fosforic este furnizat de către ATP. Interesant că înlănțuirea acestor compuși în molecula finală a nucleotizilor purinici se face începînd cu fixarea acidului fosforic pe pentoză și numai după această etapă se produce biosinteza bazelor purinice, care se atașează complexului riboză—acid fosforic. Biosinteza nucleotizilor

Scanned with OKEN Scanner

pirimidinici este ceva mai simplă decît aceea a nucleotizilor purinici. Experiențele cu izotopi radioactivi au arătat că bazele pirimidinice se formează din amoniac, CO_2 și acid aspartic (planșa I).

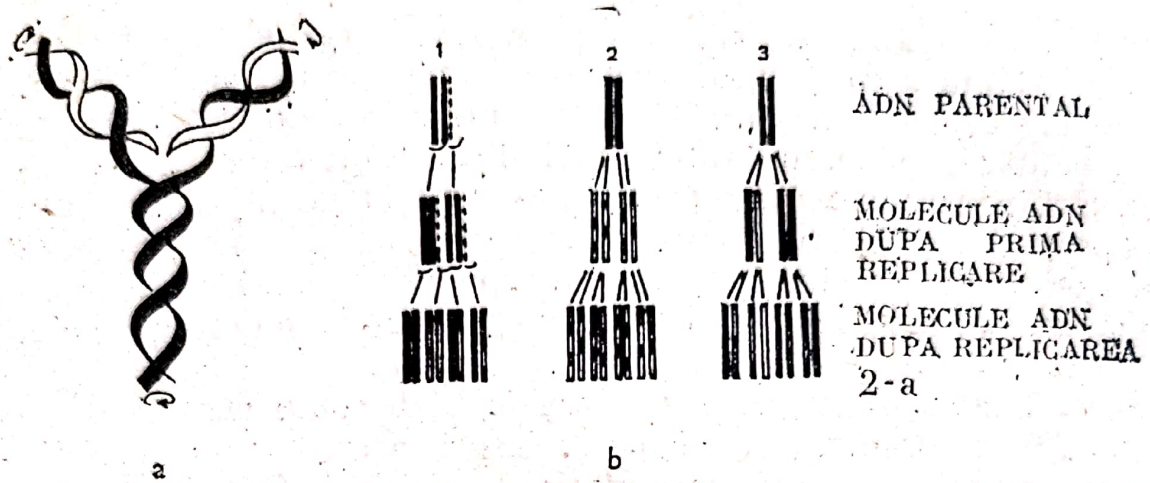
O problemă importantă din punct de vedere biologic, legată de biosinteza acizilor nucleici, este autoreproducerea sau reduplicarea acidului dezoxiribonucleic. Așa cum am arătat mai înainte, Watson și Crick au propus un model ingenios al structurii moleculei de ADN, care are marele avantaj de a explica capacitatea de reduplicare. Conform acestui model, ADN se prezintă ca o spirală dublă, formată din două catene polinucleotidice care au tendința să se unească. În ambele catene, bazele purinice și pirimidinice sînt astfel dispuse, încît adeninei dintr-o catenă îi corespunde întotdeauna timina din cealaltă catenă, iar guaninei citozina. Ambele catene se leagă reciproc prin legături de hidrogen, care se rup în interfaza diviziunii celulare, pe fiecare catenă izolată de ADN formîndu-se, ca pe matrice, o a doua catenă complementară, similară structurii anterioare.

Reduplicarea începe la extremitatea sau într-un punct oarecare al macromoleculei de ADN, unde se produce o rupere a legăturilor de hidrogen între cele două lanțuri polinucleotidice, după care ruperea continuă de-a lungul macromoleculei, asemănător cu desfacerea unui fermoar. În același timp are loc o derulare a lanțurilor polinucleotidice și, ca urmare, fiecare nucleotid component se rotește într-un plan exterior în jurul radicalilor fosforici. În sucul celular se găsesc nucleotide diferite, care au fost sintetizate în celulă și care conțin cele patru baze azotate (adenina, guanina, citozina și timina). Întrucît între bazele purinice și pirimidinice există o corespondență, un nucleotid care conține adenină se va lega întotdeauna cu un nucleotid care conține timină, iar unul care conține guanină se va lega cu unul care conține citidină (fig. 49).

În acest fel are loc dedublarea macromoleculei de ADN, fiecare macromoleculă fiind formată dintr-un lanț polinucleotidic vechi și unul nou. Este tipul semiconservativ de autoreproducere a macromoleculei de ADN. Mecanismul replicării semiconservative a fost demonstrat experimental la bacterii de numeroși autori, care au arătat că reduplicarea cromozomului bacterian se face secvențial, că o nouă replicare nu se inițiază pînă la terminarea celei vechi.

Proprietatea acizilor dezoxiribonucleici de a se reduplica constituie fundamentul diviziunii celulare în întreg regnul animal și vegetal, precum și esența materială (baza moleculară) a transmi-

Scanned with OKEN Scanner



49. Multiplicarea acidului dezoxiribonucleic :

a — reprezentare schematică a reduplicării moleculei de ADN (după Delbruck şi Stent); *b* — reduplicarea semiconservativă; lanţurile marcate cu izotopi radioactivi sînt figurate în negru (după Hayes)

terii caracterelor ereditare. După cum se ştie, ereditatea reprezintă un complex de funcţii ale materiei vii care asigură moştenirea caracterelor în succesiunea generaţiilor. Este bine cunoscut faptul că organismele care alcătuiesc o specie se diferenţiază de cele ale altor specii printr-un ansamblu de caractere morfologice, de nutriţie, de reproducere etc., care sînt specifice şi se transmit descendenţilor. Ereditatea ca funcţie esenţială a materiei vii asigură transmiterea caracterelor de la părinţi la descendenţi.

În anumite limite, firește, sînt posibile variaţii, mutaţii, fenomene de variabilitate, condiţionate atît de factorii ereditari, cît şi de cei de mediu extern. Cu toate acestea, principalele caractere ale specificităţii de specie şi de organ se păstrează în marea lor majoritate.

Astăzi este un fapt bine stabilit că principalii purtători ai eredităţii sînt cromozomii, formaţi din complexe de proteine şi acizii nucleici, în care predomină acidul dezoxiribonucleic. În perioada de pregătire a celulei în vederea diviziunii, cromozomii se dublează utilizînd în acest scop materialul existent în celulă. După terminarea diviziunii celulare, fiecare celulă-fiică posedă o „baterie“ de cromozomi analogă cu cea iniţială. Acest lucru se realizează datorită faptului că nucleoproteinele, purtătorii particularităţilor specifice ale celulei, se pot reduplica, îşi pot mări masa, păstrînd proprietăţile chimice şi biologice care le sînt caracteristice.

Dacă nucleoproteinele sînt capabile de autoreproducere şi constituie substratul chimic al factorilor eredităţii, este clar că particularităţile specifice ale oricărei fiinţe vii, care persistă şi după

Scanned with OKEN Scanner

diviziunea celulară, sînt legate de prezența în organismul respectiv a unui complex nucleoproteinic cu o componentă bine definită. Variațiile acestei componente determină noi raporturi, ceea ce duce la apariția unor mutanți fie parțial sau total viabili, fie neviabili. Hotărîtoare în această privință este, probabil, capacitatea sau incapacitatea compușilor nou formați de a se reduplica, folosind materialul elementelor celulare corespunzătoare. Dacă reduplicarea unui anumit complex într-un mediu stabilit nu este posibilă, viața încetează.

Specificitatea de specie este condiționată de componenta nucleoproteinică a elementelor celulare. Dacă acestea corespund la nivelul celulelor sexuale, fecundația se produce fără dificultăți. În cazul că nu există o concordanță apreciabilă, fecundația nu e posibilă, compușii nucleoproteinici nemaiputîndu-se reduplica. Dacă neconcordanța e mai puțin accentuată, apare o încrucișare interspecifică, obținerea unor indivizi viabili este limitată, iar animalele astfel „realizate" nu se mai înmulțesc. Componenta variabilă a nucleoproteinelor din elementele celulare asigură, probabil, dezvoltarea structurii și a funcției diferitelor organe. Astfel, ficatul are la același animal o componentă nucleoproteinică diferită de a inimii, plămînului sau rinichiului. Constanta acestei componente asigură posibilitatea unei funcționări normale a organului respectiv. Proprietățile individuale ale diferitelor celule din organism au de asemenea ca substrat unele variații în componența structurilor lor nucleoproteinice. Varietății particularităților specifice, organice și individuale, îi corespunde un polimorfism analog al complexelor nucleoproteinice. Remarcabilul polimorfism al acestor complexe, în prezența unei anumite variabilități, face practic imposibilă identitatea absolută chiar a unor elemente extrem de omogene. Astfel, particularitățile specifice ale unui microb sînt determinate în mare măsură de specificitatea nucleoproteinelor din componența lui. Dacă sub influența diferitelor condiții apar modificări în componenta nucleoproteinică a microorganismelor, aceasta duce la schimbarea esenței biologice, la apariția unei anumite variații, la fenomene de variabilitate.

Variabilitatea—fenomenul opus eredității—constă în schimbarea caracterelor sau a asocierilor de caractere, și numai a acelora care sînt transmisibile ereditar. Ereditatea și variabilitatea reprezintă o unitate dialectică deoarece nu pot exista una fără alta. Orice variație a structurii ADN determină mutații a căror existență a fost demonstrată pe bacterii. La nivel molecular, mutațiile se

Scanned with OKEN Scanner

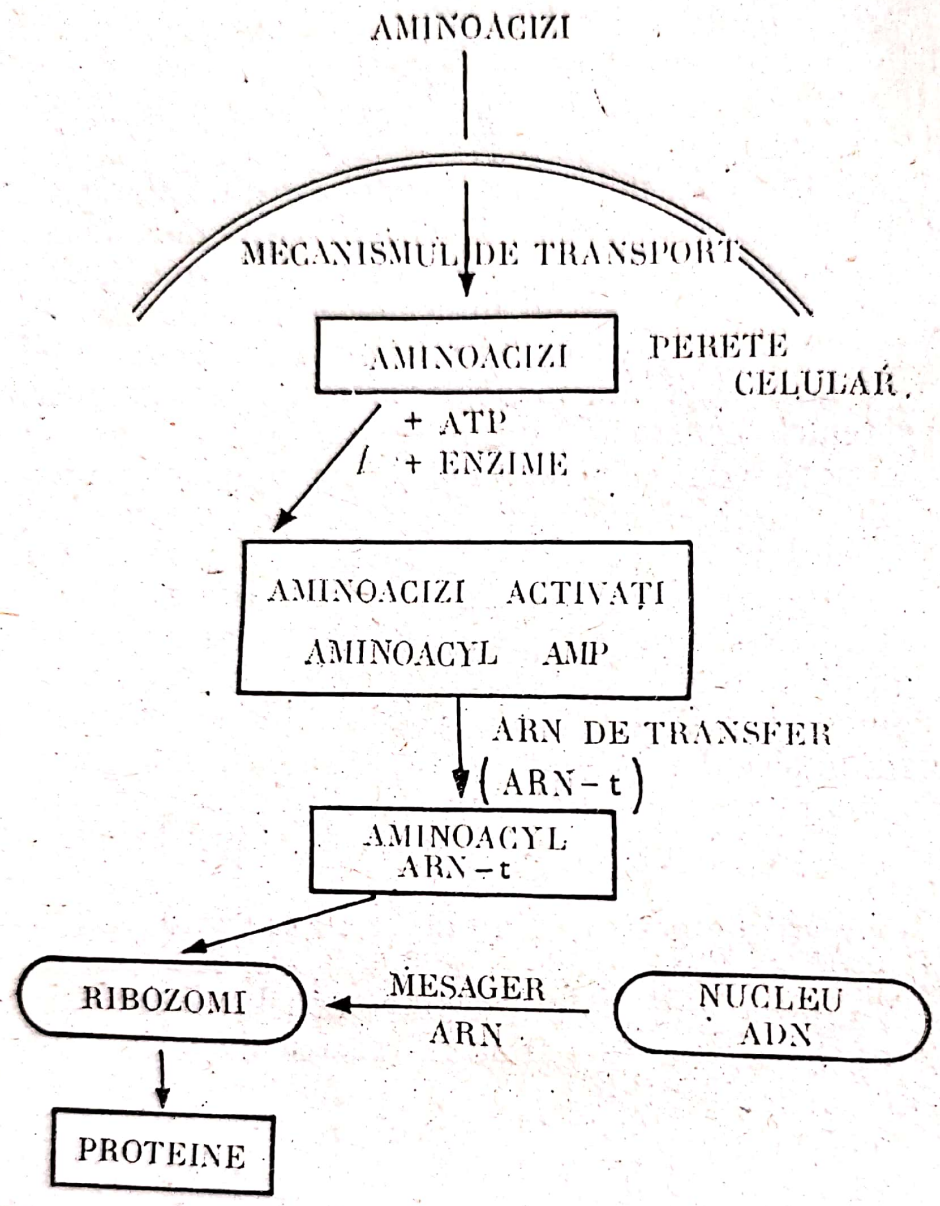
datoresc schimbării secvenței nucleotizilor de-a lungul catenei liniare a ADN, fie că este vorba de mutații spontane, fie de cele „induse". Mutațiile reprezintă un element de bază pentru variabilitatea și evoluția organismelor vii.

Acestea din urmă prezintă un număr foarte mare de tipuri de proteine, cu structuri și proprietăți deosebite, care îndeplinesc diferite funcții. Se poate spune pe drept cuvînt că nu există funcție sau manifestare vitală în care să nu intervină proteinele. Astfel, digestia nu ar fi posibilă fără prezența enzimelor secretate de tubul digestiv, respirația fără existența hemoglobinei și a citocromilor, circulația fără proteinele contractile din mușchiul cardiac, excreția fără sistemele enzimatice din celulele renale, locomoția fără proteinele contractile din mușchiul scheletal, reproducerea, creșterea și dezvoltarea fără biosinteza proteinelor specifice, reactivitatea imunitară fără biosinteza proteinelor anticorpi, activitatea nervoasă superioară fără existența proteinelor fermenți etc. De aceea cunoașterea modului cum iau naștere proteinele în organismele vii reprezintă problema centrală a biologiei și a biochimiei moderne.

Biosinteza macromoleculei proteice comportă încă numeroase incertitudini. Cu toate acestea, procesul de sinteză a moleculei proteice a putut fi astăzi împărțit într-o serie de etape deosebite, riguros delimitate.

Prima etapă o constituie activarea aminoacizilor, cea de-a doua conjugarea ordonată a aminoacizilor activați, cu alte cuvinte dispoziția într-o anumită ordine dată a aminoacizilor legați între ei prin legături peptidice, cea de-a treia adaptarea de către molecula liniară a catenei polipeptidice a unei anumite structuri spațiale, specifice fiecărei proteine. În cadrul acestor trei etape, biochimia modernă nu a reușit să descifreze decît cîteva dintre reacțiile chimice care stau la baza primei etape. Din punct de vedere chimic, procesul de activare al aminoacizilor este rezultatul scindării grupării pirofosforice din acidul adenozintrifosforic, substituind în locul ei un aminoacid. Se formează astfel anhidrida adenilică a aminoacidului, care reprezintă însăși forma activată a acestuia. Reacția de activare are loc în partea lichidă, astructurată a citoplasmei, sub acțiunea unor fermenți speciali. După cît s-a putut stabili în prezent, pentru activarea fiecărui aminoacid în parte este necesară o enzimă specială. Multe dintre ele au fost deja izolate. Legătura din adenilatul aminoacilic posedă, ca și la majoritatea anhidridelor, o rezervă mărită de energie, ea reprezentînd o legătură macroergică.

Scanned with OKEN Scanner



50. Schema activării aminoacizilor

Mai departe, în procesul biosintezei proteice intervine acidul ribonucleic, și anume o fracțiune determinată, specială a acestuia. Este vorba de ARN solubil sau transportor. Așa cum am văzut, acest ARN îndeplinește funcția specială de transportor al aminoacidului activat de la enzima activatoare spre locul formării efective a legăturii peptidice, adică spre ribozomi. În procesul de transfer, radicalul activat al aminoacidului iese din combinația sa cu acidul adenilic, legîndu-se de molecula ARN-t. Această transa-

minoacilare este atribuită aceleiași enzime activatoare care realizează formarea primară a anhidridei aminoacidului, adică activarea acestuia.

Aminoacidul legat de ARN-t rămîne într-o stare activată datorită legăturilor macroergice. S-a demonstrat că, pentru fiecare aminoacid în parte dintre cei 20 care intră în constituția proteinelor, există cîte un ARN-t specific. Așadar, aminoacidul fixat de ARN-t (aminoacil-ARN-t) este transportat la nivelul ribozomilor, unde se realizează sinteza propriu-zisă a proteinelor. În ribozomi, după ce aminoacizii sînt eliberați, carboxilul activat reacționează cu grupările aminice libere ale aminoacizilor alăturați, formînd astfel legătura peptidică (fig. 50).

Cercetările moderne privind biosinteza proteinelor au dus la concluzia că prezența fiecăruia dintre cei 20 de aminoacizi care intră în compoziția proteinelor este determinată de o anumită structură în macromolecula de ADN. Astfel, o succesiune de trei nucleotide (tripletă) în ADN condiționează o anumită structură în ARN și, prin intermediul acestuia, se adaugă la lanțul polipeptidic un anumit aminoacid.

Într-adevăr, dintr-o serie de experiențe și observații acumulate în ultimii ani asupra bacteriilor și virusurilor s-a dovedit că molecula de ADN nu este omogenă din punct de vedere funcțional. Diferitele porțiuni din macrosctructura moleculei de ADN sînt specializate pentru sinteza specifică a unui anumit tip de proteină. Deci fiecărui sector din molecula de ADN i-ar corespunde un anumit „cod", prin care se transmite totdeauna aceeași cantitatea de informație genetică atît calitativ, cît și cantitativ. Această porțiune de ADN, strict specifică pentru sinteza unei anumite proteine, a fost denumită cistron structural; ea dirijează ordinea de așezare a aminoacizilor într-un anumit tip de proteină, reprezentînd factorul hotărîtor prin care ADN determină secvențializarea aminoacizilor în lanțurile polipeptidice. Transmiterea informației genetice de la ADN la ARN-ribozomic s-ar face prin intermediul unui alt acid nucleic, numit ARN de informație sau ARN mesager, după următoarea schemă :

cistron—ADN → ARN—m → ARN—t → ARN—r → proteină

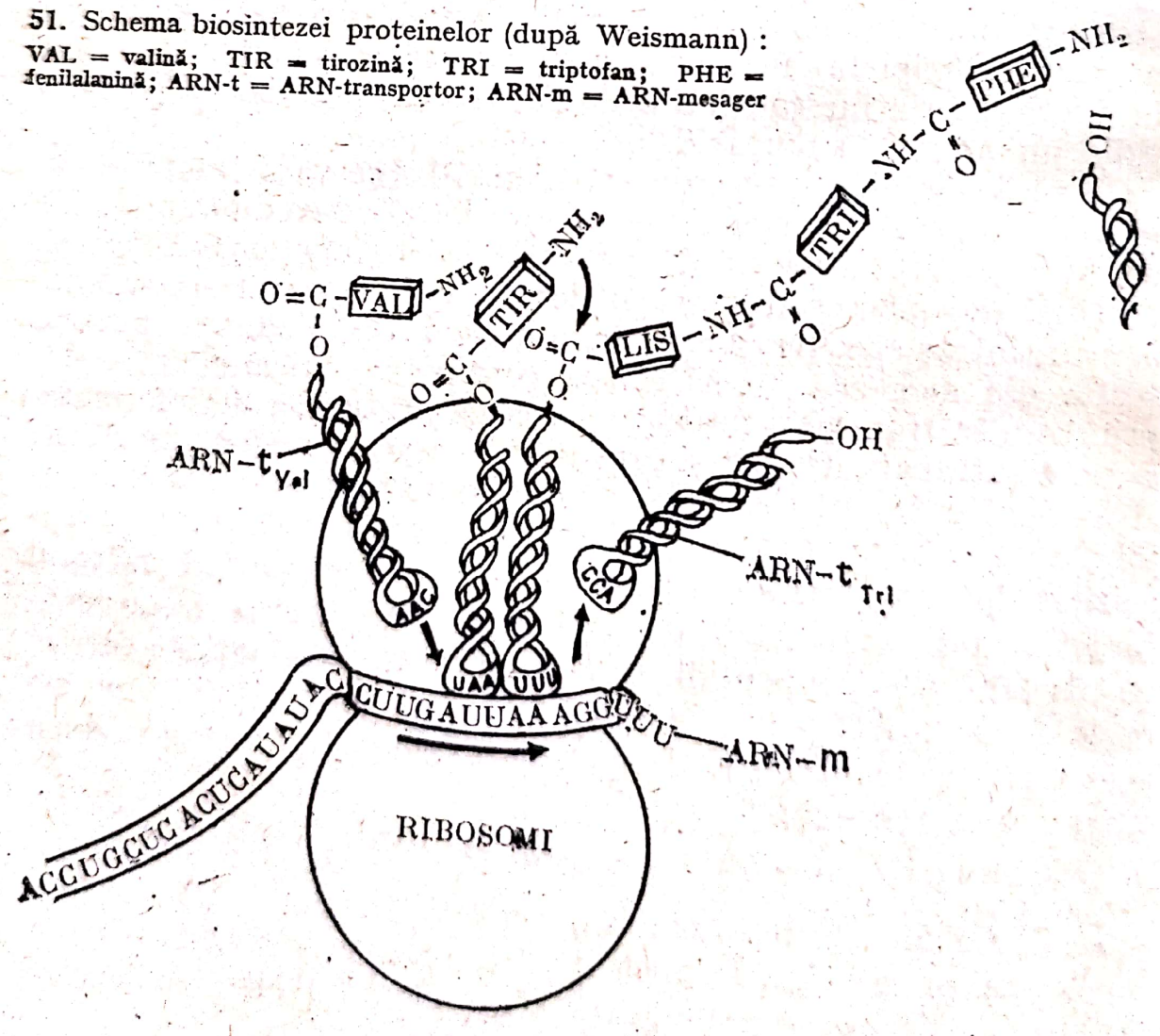
În figura 51 este reprezentată, după Weismann (1963), schema biosintezei proteinelor. În nucleul celular are loc sinteza de ARN-m de un anumit tip, corespunzător cistronilor din macromoleculele

Scanned with OKEN Scanner

de ADN. ARN-m, sintetizat astfel ca pe o matriță, migrează din nucleul celular în citoplasmă, aducînd cu el informația genetică conținută în ADN din nucleu. În citoplasma celulară se găsesc în stare liberă toți cei 20 de aminoacizi care intră în constituția proteinelor și sînt introduși în ribozomi de către acizii ribonucleici solubili.

Așa cum s-a arătat mai sus, fiecărui tip de aminoacid îi corespunde un anumit tip de ARN-t cu care acesta se combină și ajunge în ribozomi. Aici are loc integrarea aminoacizilor în lanțul polipeptidic într-o anumită succesiune, determinată de ordinea nucleotidelor din ADN și, respectiv, din ARN-m, care s-a sintetizat după modelul ADN. La nivelul ribozomilor, sub influența ARN-ribozomal, are loc asamblarea aminoacizilor într-un anumit tip de proteine, iar ARN-t este pus în libertate, astfel că ciclul poate fi reluat. În ultimii ani s-a reușit să se determine tripletele de nucleo-

51. Schema biosintezei proteinelor (după Weismann) : VAL = valină; TIR = tirozină; TRI = triptofan; PHE = fenilalanină; ARN-t = ARN-transportor; ARN-m = ARN-mesager



tide pentru toți cei 20 de aminoacizi care intră în structura proteinelor (vezi tabelul 4).

Tabelul 4

Unii codoni stabiliți pentru aminoacizi (după J. Abelson)

Aminoacizi	Cuvinte de cod (codoni)	
	Nirenberg, Matthaei	Ochoa, Severo și colab.
Alanină	CCG	CUG, CAG, CCG
Arginină	CGC	GUC, GAA, GCC
Asparagină	ACA	UAA, CUA, CAA
Acid aspartic	ACA	GUA, GCA
Cisteină	UUG sau UGG	GUU
Acid glutamic	ACA, AGA, AUG	AAG, AUG
Glutamină	ACA	AGG, ACA
Glicină	UGG	GUG, GAG, GCG
Histidină	ACC	AUC, ACC
Izoleucină	UUA	UUA, AAU
Leucină	GUU, CUU, AUU (UUU)	UAU, UUC, UGU
Lizină	AAA, AAG, AAC, AAU	AAG, AAA
Metionină	UGA	UGA
Fenilalanină	UUU	UUU, UUC
Prolină	CCC, CCU, CCA, CCG	CUC, CCC, CAC
Serină	UCG, UUC, UCC	CUU, CCU, ACG
Treonină	CAG, CAA	UCA, ACA, CGC
Triptofan	UGG	UGG
Tirozină	UAU	AUU
Valină	UGU	UUG

Datele prezentate mai sus arată că în etapa actuală, datorită tehnicilor din ce în ce mai perfecționate, este posibilă cunoașterea bazelor moleculare ale vieții, ale autoreproducerii materiei vii. În ultimii ani se consideră că nu numai proprietatea de autoreduplicare a ADN este răspunzătoare de transmiterea eredității biologice reflectate în biosinteza proteinelor specifice, ci și alți factori. Este suficient să amintim că biosinteza acizilor nucleici este strîns legată de activitatea sistemelor enzimatice. Întrucît reduplicarea ADN și biosinteza proteinelor din celula vie, așa cum au fost descrise mai sus, presupune existența atît a ADN, cît și a proteinelor citoplasmatice specifice, se poate afirma că autoreproducerea materiei vii este legată nu numai de materialul nuclear, ci și de cel citoplasmic. La baza autoreproducerii materiei vii se află deci un sistem multimolecular foarte complex, care reclamă participarea, alături de ADN, și a altor substanțe ce intră în structura materiei vii.

Scanned with OKEN Scanner

4

Proteinele și imunitatea

Imunitatea, însușire caracteristică a organismelor vii. Rolul proteinelor în imunitate

Organismele superior organizate sînt înzestrate de la naștere cu o rezistență pronunțată față de anumite boli infectocontagioase produse de virusuri și microbi. Această rezistență, denumită imunitate, desemnează nereceptivitatea organismelor vii față de un agent infecțios sau de o anumită substanță străină, determinată de un ansamblu de reacții de apărare și de adaptare a organismului, transmise pe cale ereditară sau cîștigate în cursul vieții individuale. Aceste reacții împiedică pătrunderea și multiplicarea agenților patogeni, precum și acțiunea produselor pe care acești agenți patogeni le eliberează (Zilber). Imunitatea este variată. Astfel, după origine, deosebim două forme de imunitate : naturală (înnăscută) și dobîndită. *Imunitatea naturală* reprezintă nereceptivitatea organismului față de un anumit agent infecțios sau față de o anumită substanță străină. Ea este caracteristică speciei, întrucît se transmite ereditar ca oricare altă însușire morfologică sau biologică a acesteia.

Imunitatea dobîndită este cîștigată de organismul animal în cursul vieții sale individuale. Cînd imunitatea dobîndită se realizează prin contractarea bolii, vorbim despre imunitatea dobîndită în mod natural, iar cînd aceasta se realizează prin vaccinare, imunitatea este dobîndită în mod artificial. Mai deosebim o imunitate dobîndită în mod activ, care apare fie pe cale naturală, ca urmare a unei infecții, fie pe cale artificială, prin vaccinare. În ambele cazuri, organismul care dobîndește imunitatea participă el însuși la crearea acesteia, sintetizînd o serie de proteine cu rol în apărare, care poartă numele de anticorpi. Așa, de pildă, după îmbolnăvirea omului de febră tifoidă, serul acestuia dobîndește capacitatea de

Scanned with OKEN Scanner

a omorî microbii febrei tifoide. De asemenea, inocularea calului cu toxină difterică face ca serul acestuia să dobîndească capacitatea de a neutraliza toxina microbiană datorită formării antitoxinei. Dacă însă se folosește o antitoxină deja formată și serul care o conține este administrat omului sau animalului fără ca organismul acestora să fi primit, în prealabil, toxina, atunci se creează, pe această cale, o imunitate pasivă, condiționată de o antitoxină care nu a fost elaborată în mod activ de organismul care a primit serul, ci recepționată în mod pasiv o dată cu serul introdus.

Imunitatea dobîndită în mod activ, mai ales cea cîștigată pe cale naturală, se instalează la cîteva săptămîni de la îmbolnăvire sau imunizare, persistă vreme îndelungată, uneori chiar toată viața. Un exemplu tipic îl reprezintă imunitatea față de rujeolă. Imunitatea dobîndită nu se transmite ereditar, deși capacitatea organismelor de a se imuniza activ constituie un caracter ereditar de specie, propriu organismului, ca și receptivitatea sau imunitatea naturală.

Imunitatea dobîndită în mod pasiv se instalează foarte rapid, de obicei la cîteva ore de la introducerea serului imun, dar se menține puțină vreme, stingîndu-se pe măsura dispariției anticorpilor introduși în organism. Cel mai adesea imunitatea dobîndită în mod pasiv dispare după cîteva săptămîni.

Imunitatea de infecție reprezintă o formă deosebită a imunității dobîndite, care este condiționată nu de existența unei infecții în antecedențe, ci tocmai de prezența acesteia în organism. Această imunitate durează doar atîta timp cît organismul este infectat.

Imunitatea, sub diferitele ei forme, nu ar fi posibilă fără *participarea proteinelor în procesele imunitare*. Rolul acestor substanțe în procesele de imunitate este astăzi bine stabilit. Proteinele reprezintă nu numai materialul de bază pe seama căruia se formează și se reînnoiesc celulele, ci și principalul component al majorității substanțelor active din organism. Ele ocupă o poziție centrală în desfășurarea tuturor proceselor metabolice care stau la baza vieții. Aportul insuficient de proteine micșorează reactivitatea generală și rezistența organismelor față de agenții patogeni, făcînd să crească, în același timp, numărul îmbolnăvirilor și gravitatea bolilor.

Atît imunitatea dobîndită, nespecifică, cu spectru larg de acțiune, cît și cea dobîndită pe cale naturală sau artificială, cu efecte specifice asupra agenților care au determinat-o, sînt puternic influențate de factori externi, printre care alimentația proteică ocupă primul loc. Din cercetările efectuate pe mai multe specii de animale

Scanned with OKEN Scanner

(maimuțe, șoareci, șobolani, păsări etc.) reiese clar că în cazul unui aport neadecvat de proteine, pătrunderea și multiplicarea microbilor în organism se face cu mult mai multă ușurință, îmbolnăvirile sînt mai frecvente, evoluția bolilor este mai gravă și mortalitatea mult mai mare. Întrucît proteinele reprezintă componenta de bază a tuturor mijloacelor de apărare, insuficiența lor micșorează nu numai forțele mobile celulare și umorale imediat disponibile pentru reacția de apărare, ci și stocul de rezervă al acestor mijloace, micșorînd, în același timp, capacitatea organismului de a elabora arme noi, specifice agentului patogen respectiv.

Avînd cea mai puternică acțiune dinamică specifică asupra sistemului nervos central și participînd la desfășurarea tuturor proceselor metabolice, lipsa proteinelor privează organismul de efectul tonifiant și stimulant al metabolismului general și micșorează potențialul de reacție al organismului prin reducerea posibilităților acestuia de a se adapta diferitelor condiții de mediu extern și de a se apăra față de agresiunile microbiene. Astfel, este bine cunoscut astăzi faptul că insuficiența proteinelor în alimentație face să scadă nu numai activitatea unui număr mare de enzime, ci și secreția hormonilor, care au un rol deosebit de important în mobilizarea rezervelor pentru apărarea organismului.

O reducere a cantității de proteine alimentare micșorează capacitatea de apărare cu atît mai mult, cu cît organismul este mai tînăr. Explicația fenomenului constă în aceea că atît neoformarea de țesuturi, cît și elaborarea armelor defensive au la bază anabolismul protеic, care, la rîndul său, este condiționat de coexistența, în anumite proporții, a aminoacizilor ce intră în constituția proteinelor alimentare, celulare și umorale. Dacă infecția a reușit să se instaleze, consumul proteinelor la nivelul țesuturilor (catabolismul proteic) crește, ceea ce atrage după sine o creștere a nevoilor de material azotat, deci o sporire a cantității de proteine în dieta alimentară.

Pentru a înțelege rolul deosebit de important al substanțelor proteice în apărarea organismului vom prezenta pe scurt verigile fundamentale ale imunității : barierele cutanate și mucoase ; inflamația ; fagocitoza ; sistemul reticulo-endotelial ; funcția de barieră a țesutului limfatic ; reactivitatea celulelor organismului și factorii umorali. În cadrul fiecărei verigi amintite, proteinele dețin rolul principal, atît în procesele relativ simple, ca barajul mecanic (keratina din piele), cît și în cele complexe, ca de exemplu reacțiile enzimatice ale fagocitozei, acțiunea bactericidă a umorilor etc.

Scanned with OKEN Scanner

Pielea participă la apărarea organismului împotriva infecțiilor prin structura sa, care este impermeabilă pentru majoritatea bacteriilor. Pielea nu este numai o barieră mecanică pentru microbi, ci s-a dovedit că ea are și o activitate sterilizantă. Astfel, după trei minute de la umezirea unui deget cu o cultură de streptococ hemolitic se pot găsi pe el circa 30 000 000 de streptococi, după o oră 1 722 000, iar după două ore numai 7 000. Experiențele de control, în care s-a umezit o sticlă cu culturile respective, au arătat că efectul obținut nu se poate explica pintr-un proces de uscare a culturilor.

Mucoasele iau și ele parte la apărarea organismului față de microbi, nu numai prin funcția de barieră mecanică, ci și prin substanțele proteice și neproteice cu activitate bactericidă pe care le secretă. Astfel, aciditatea ridicată a sucului gastric, activitatea enzimatică intensă a acestuia, ca și prezența în suc a salivei care posedă proprietăți bactericide împiedică multiplicarea bacteriilor. Într-adevăr, la oamenii sănătoși sucul gastric este steril. Mucoasa intestinală, pe care se află o cantitate enormă de bacterii, posedă proprietăți bactericide foarte accentuate, fapt care explică de ce pătrunderea bacteriilor în organism prin tractul gastrointestinal reprezintă un fenomen foarte rar. Substanța cu acțiunea cea mai intensă care se găsește în produsele de secreție ale mucoaselor este lizozimul, o proteină care are proprietatea de a depolimeriza și a hidroliza unele substanțe glucidice (mucopolizaharide) care se găsesc în țesuturile animale și în unele celule bacteriene. Lizozimul a fost pus în evidență în lacrimi, urină, salivă, lichidul peritoneal, plasmă sanguină, leucocite, cartilagii, laptele de mamă, albușul de ou, icrele diferiților pești etc. El nu se găsește în lichidul cerebrospinal, în creier, în fecale, în sudoare și nici la noul-născut în primele două zile de la naștere. Lizozimul joacă un rol deosebit în imunitatea conjunctivei și a corneei, ca și în cea a cavităților bucală, faringiană și nazală. Corneea, țesut extrem de sensibil la infecții, vine în contact nemijlocit cu o cantitate enormă de microbi din aer, printre care și cu microbi care pot produce distrugerea acesteia (stafilococi, pneumococi). Totuși, aceste îmbolnăviri ale corneei reprezintă un fenomen foarte rar. Explicația constă în înaltele proprietăți bactericide ale lacrimilor care spală constant corneea și care sînt bogate în lizozim.

Proteinele-enzime din celulele fagocitare au o deosebită importanță în imunitate, știut fiind faptul că fagocitoza deține un rol fundamental în cadrul general al imunității. Prin fagocitoză înțe-

Scanned with OKEN Scanner

legem proprietatea unor celule de a îngloba și digera în protoplasma lor microbii, ca și alte particule materiale. Procesul de digestie, de distrugere a microbilor este strîns legat de activitatea unor proteine cu funcție enzimatică ce se găsesc în protoplasma celulelor fagocitare. Astăzi se știe că nu numai globulele albe (leucocitele) manifestă proprietăți fagocitare, ci și alte multe celule ale organismului care fac parte din așa-numitul sistem reticulo-endotelial (celulele reticulare și endoteliale ale splinei și măduvei oaselor, celulele Kupffer din ficat, celulele reticulare și endoteliale ale ganglionilor limfatici, celulele endoteliale ale capilarelor din glanda cortico-suprarenală, așa-numitele histocite etc.).

O dovadă a însemnătății fagocitozei ca mecanism de apărare a organismului o reprezintă faptul că scăderea sau împiedicarea ei reduce rezistența organismului. Așa, de pildă, dacă sporii bacilului tetanic sînt bine spălați de toxină și introduși în organismul animal ei sînt rapid fagocitați, iar îmbolnăvirea nu se produce. Dacă însă sporii acestui microb sînt introduși în organism într-un tampon de vată sau într-o bucățică de agar, ceea ce face ca leucocitele să nu-i poată îngloba sau să întîrzie această înglobare, sporii au timp să se transforme în microbi și să producă îmbolnăvirea și moartea animalului. În infecțiile virotice fagocitoza nu are o însemnătate esențială.

Rolul fagocitozei în organismul viu nu se limitează numai la pocesele infecțioase. S-a demonstrat că și alte procese fiziologice se realizează datorită activității fagocitare a leucocitelor. Astfel, distrugerea globulelor-roșii, care are loc în splină și în ficat, este condiționată de activitatea fagocitară a celulelor sistemului reticulo-endotelial. Un proces analog are loc în măduva oaselor. Procesul de regresiune a uterului după naștere, la starea sa normală, este însoțit de fagocitarea musculaturii acestuia. Procesele de involuție a testiculelor ca și cel de degenerare a sistemului nervos în perioada bătrîneții, apariția părului cărunt, toate sînt legate de fagocitarea activă a celulelor respective de către leucocite.

Inflamația constituie una dintre formele de apărare ale organismului cu caracter reflex, care apare sub influența diferiților excitanți patogeni: mecanici, termici, toxici (chimici) infecțioși, parazitari etc. Ea constă dintr-un ansamblu de procese patologice care nu reprezintă altceva decît o creștere bruscă a expresiei cantitative a proceselor fiziologice. În cursul inflamației se observă în țesuturi fenomene cu caracter diferit ca: alterarea țesuturilor pînă la distrugerea și dezagregarea celulelor; tulburări circulatorii

Scanned with OKEN Scanner

însoțite de un aflux mare de sînge în teritoriul inflamat și la creșterea permeabilității vasculare, cu trecerea în țesuturi a elementelor componente ale sîngelui, multiplicarea elementelor celulare locale etc.

În cazul infecțiilor, procesul inflamator ca atare, indiferent de organismul în care se desfășoară, împiedică diseminarea microbilor în organism. Procesul inflamator nu are însă numai rolul de a împiedica diseminarea microbilor din zona de inflamație în restul organismului, ci focarul inflamator fixează și acumulează substanțele străine și microbii care circulă în sînge. Printre factorii care participă la procesul de fixare a germenilor în focarul inflamator amintim : fagocitoza și anticorpii. Leucocitele care se acumulează în zona de inflamație formează un fel de barieră care nu numai că împiedică microbii să pătrundă în alte părți ale organismului, ci îi și distruge prin fagocitoză la locul inflamației. Creșterea presiunii și a permeabilității capilarelor sanguine care survin în inflamație determină o creștere a cantității de lichide care trec prin pereții capilarelor și o îmbogățire a zonei de inflamație cu substanțe conținute în sînge, inclusiv cu anticorpi. Aceștia din urmă, acționînd asupra bacteriilor, le fac mai accesibile pentru factorii de apărare celulari și, aglutinînd bacteriile, le reține în zona de inflamație.

Ganglionii limfatici constituie o barieră în calea pătrunderii multor germeni microbieni în profunzimea organismului, atît la animalul normal, cît și la cel imun. Creșterea accentuată a funcției de barieră a ganglionilor limfatici în organismul imun are loc o dată cu intensificarea celorlalți factori de apărare, în special a activității fagocitare și a concentrației de anticorpi în sînge și țesuturi.

Activitatea bactericidă a sîngelui, ca și a celorlalte umori, este strîns legată de o serie de substanțe proteice ca : lizozimul, pe care l-am prezentat mai înainte, alexina sau complementul, properdina, betalizinele, leucinele, plachinele și anticorpii naturali sau normali.

Lizozimul este o enzimă cu greutate moleculară relativ mică (14 750), formată din 130 de aminoacizi. Această proteină, de o mare importanță biologică, lizează foarte rapid o serie de microorganisme.

Alexina este un complex de proteine sintetizate probabil la nivelul ficatului, notate cu literele C'_1, C'_2, C'_3, C'_4. Aceste componente se întîlnesc în serurile diferitelor animale și participă la reacția antigen-anticorp, despre care vom vorbi mai departe.

Scanned with OKEN Scanner

Properdina, proteină serică, care joacă un rol important în imunitatea naturală, este o euglobulină cu constanta de sedimentare de 19 S, reprezentînd 0,02% din totalul proteinelor serice la om. Ea acționează, în asociație cu componentele alexinei, în prezența ionilor de magneziu și la o anumită temperatură. După unii autori, properdina nu ar reprezenta altceva decît un complex de anticorpi naturali ce au apărut spontan în cursul evoluției organismelor, ca un rezultat al dezvoltării florei bacteriene saprofite normale.

Betalizinele sînt substanțe proteice (globuline), care se găsesc în concentrație mare în serul de șobolan, iepure, cal, oaie, bou, cîine.

Leucinele, globuline prezente în leucocite, provoacă moartea germenilor fagocitați de către aceste celule. Substanțele de natură proteică asemănătoare leucinelor au fost extrase din trombocite sau plachetele sanguine, de unde și denumirea lor de *plachine*.

Din cele expuse mai sus putem deduce cu ușurință că imunitatea prin complexitatea, diversitatea și în același timp specificitatea ei implică mecanisme extrem de complexe și de variate. Unul dintre aceste mecanisme este cel al reacției antigen-anticorp, care se soldează fie cu distrugerea microorganismului invadant, fie cu neutralizarea toxinelor pe care acesta le elaborează. Dar să vedem ce sînt antigenii și anticorpii și, bineînțeles, ce rol au proteinele-anticorpi în procesele imunitare.

Antigenele, substanțe proteice și neproteice

Antigenele sînt substanțe care au proprietatea de a provoca, prin introducerea lor în organism, formarea unor proteine speciale numite anticorpi. Ele sînt dotate cu două proprietăți fundamentale, și anume : capacitatea de a provoca formarea de anticorpi specifici în organism și aceea de a reacționa cu anticorpi gata formați. Substanțele antigenice care au capacitatea de a reacționa cu anticorpii gata formați, dar care nu pot determina singure formarea anticorpilor în organism, poartă numele de *antigene incomplete sau haptene*.

Pentru ca antigenul să dea naștere la anticorpi este necesar ca el să pătrundă în țesuturile sau umorile organismului și să fie străin pentru organism din punctul de vedere al structurii sale chimice. Așa, de exemplu, dacă se introduce în sîngele circulant al unui iepure ser recoltat de la iepuri din aceeași specie, atunci nu apar

Scanned with OKEN Scanner

anticorpi. Numai în cazul în care între cei doi iepuri (primitor și donator) există o lipsă de corespondență între structura chimică a antigenului donatorului și cea a primitorului, condiționată de deosebiri individuale sau de altă natură, iau naștere anticorpi, denumiți în acest caz homologi sau izoanticorpi. În cazuri patologice însă, ca de pildă în bolile de autoagresiune, agenții patogeni schimbă structura proteinelor, devenind antigene pentru organismul propriu, determinînd în același timp formarea de anticorpi (autoanticorpi).

Natura chimică a antigenelor este diferită. De cele mai multe ori antigenele complete sînt proteine în stare coloidală sau polizaharide cu greutate moleculară mare. Dar nu numai acestea pot manifesta proprietăți antigenice, ci și alte substanțe, ca de exemplu grăsimile, polizaharidele cu greutate moleculară mică, unii polimeri sintetici (polivinilpirolidona), precum și alte substanțe neproteice. O parte din aceste substanțe provoacă formarea de anticorpi numai în combinație cu proteinele. Nu toate proteinele antigenice au însă aceeași capacitate de a forma anticorpi. Așa, de exemplu, albumina din ou, globulina din ser, de om sau animal, toxina difterică și tetanică sînt mult mai antigenice decît hemoglobina sau polenul. De regulă, antigenele sînt solubile în umorile organismului, putînd trece uneori cu ușurință prin mucoasa intestinală, respiratorie sau prin placentă. În general, moleculele antigenelor sînt de dimensiuni mari, depășind cifra de 10 000. Proprietățile antigenice cresc o dată cu greutatea și dimensiunile moleculare.

Una dintre proprietățile biologice fundamentale ale antigenelor este specificitatea (de specie și de structură), adică proprietatea acestora de a reacționa numai cu anticorpi formați în urma introducerii lor în organism. Această specificitate nu este determinată de întreaga sa moleculă, ci de un radical chimic, numit grupare determinantă. Compoziția acestuia și configurația spațială a elementelor sale componente sînt hotărîtoare pentru determinarea specificității antigenului în întregime.

Celulele și umorile organismelor animale sînt alcătuite dintr-un mare număr de antigene. De pildă, în complexul proteic al oului de găină s-au putut pune în evidență cel puțin cinci antigene diferite, ce corespund celor cinci proteine izolate din ou și care diferă din punctul de vedere al structurilor chimice. În serul de cal au putut fi izolate mai multe proteine, care pot fi diferențiate una de alta atît chimic, cît și prin reacții imunologice. Studiile privind compoziția antigenică a serului de om au arătat că acesta conține

Scanned with OKEN Scanner

cel puțin 18 fracțiuni proteice cu caractere antigenice diferite. Oricare proteină a unei specii animale se deosebește, prin specificitatea sa, de proteinele unei alte specii. S-a arătat, de asemenea, că dacă serurile animalelor înrudite prezintă unele asemănări antigenice, serurile speciilor situate departe una de alta pe scara zoologică se deosebesc fundamental din punctul de vedere al structurii lor antigenice. Specificitatea de specie este însă o însușire nu numai a proteinelor serice, ci și a celorlalte tipuri de proteine. Unele proteine din organe și țesuturi care îndeplinesc funcții identice la diverse organisme sînt foarte apropiate din punct de vedere antigenic, dar nu identice. De asemenea, proteinele celulelor și țesuturilor animale au o specificitate de organ sau de țesut. În numeroase experiențe s-a arătat că proteinele ficatului, rinichiului, leucocitelor, măduvei oaselor etc. reacționează imunologic numai cu anticorpii cărora le dau naștere.

În celule există de asemenea antigene identice, care nu sînt legate printr-o înrudire biologică a speciilor și care nu îndeplinesc funcții fiziologice identice. Ele au fost denumite *antigene eterogene* sau *antigene Forssman*, după numele celui care le-a descoperit. Aceste antigene au fost puse în evidență în organele și serul de cal, în organele și globulele roșii de pisică, în mușchii și în tumorile canceroase musculare, în organele și globulele roșii de găină, în bacilii tifici și paratifici etc. Interesant că organele de om, de iepure, bou, porc, gîscă, șobolan și broască nu conțin antigene Forssman. La unele animale, prezența acestor antigene se limitează numai la globulele roșii, ca de exemplu la berbec, în timp ce la altele ele se găsesc în multe alte organe. La alte animale, ca de exemplu la cîini, pisici, pui, antigenul se găsește și în sînge și în țesuturi. În felul acesta s-a putut demonstra că antigenele eterogene din hematiile de berbec seamănă cu cele ale altor multe organisme foarte îndepărtate unele de altele pe scara zoologică. Antigenele eterogene stau la baza principiilor de executare a multor reacții serologice folosite în medicină în scop diagnostic, ca de exemplu reacția Wasserman.

În esență, în organismul aceluiași animal există antigene diferite, care se deosebesc unele de altele, dar în același timp, în organisme animale diferite se pot întîlni antigene identice.

Izoantigenele sînt antigene care se găsesc numai la unii dintre indivizii unei specii, lipsind la ceilalți indivizi ai aceleiași specii. Se știe că oamenii pot fi împărțiți în patru mari grupuri sanguine : A, B, AB și O. Această subîmpărțire are la bază tocmai deosebirile dintre antigenele care se găsesc în globulele roșii ale diferiților

Scanned with OKEN Scanner

indivizi. Astfel, în hematiile de om există două antigene : A și B, iar în seruri două feluri de anticorpi : aglutininele α și β. Simultan pot exista numai antigene și aglutinine care nu sînt corespondente, de exemplu A și β sau B și α, dar nu A și α, B și β, conform schemei de mai jos.

Antigenele hematiilor și grupele sanguine	Anticorpii din ser
O	α (anti-A) și β (anti-B)
A	β (anti-B)
B	α (anti-A)
AB	— lipsesc anticorpii

Studii privind grupele sanguine au arătat că antigenul A nu este omogen, deosebindu-se mai multe variante : A_1, A_2, A_3, A_4, A_5. Antigenele A și B nu se găsesc numai în hematii, ci și în majoritatea țesuturilor corpului, în umorile organismului, cu excepția lichidului cefalorahidian. Din punctul de vedere al compoziției lor chimice antigenele A și B sînt polizaharide care conțin azot. Atît în hematii, cît și în celulele diferitelor țesuturi, antigenele A și B sînt legate de lipoizi (grăsimi).

În afara antigenelor descrise mai sus, în hematiile umane se mai găsesc și alte antigene, și anume antigenele M și N (la unii indivizi se întîlnesc numai antigene M, la alții numai N, iar la a treia categorie se întîlnesc ambele antigene.

Factorul Rh sau factorul Rhesus este un alt antigen care se găsește numai în hematiile anumitor indivizi. El a fost descoperit în 1940 de către Landsteiner și Wiener. Autorii au constatat că serul iepurilor imunizați cu hematii de maimuță din specia *Macaccus rhesus* aglutinează numai hematiile anumitor indivizi. Antigenul de care era legată această aglutinare a căpătat denumirea de factor Rh.

Absența antigenului Rh din hematiile unor indivizi nu implică, în mod obligatoriu, prezența în serul acestora a anticorpilor anti-Rh. În unele cazuri s-a putut stabili că acest antigen poate da naștere totuși la anticorpi anti-Rh. Așa, de exemplu, dacă o femeie ale cărei hematii nu conțin antigen Rh se căsătorește cu un bărbat ale cărui hematii conțin acest antigen, hematiile fătului pot conține uneori antigenul Rh care, trecînd prin placentă, provoacă la mamă formarea aglutininelor Rh (anticorpi anti-Rh). Către sfîr-

Scanned with OKEN Scanner

șitul sarcinii acești anticorpi apar în sîngele fătului, putînd provoca liza sau topirea hematiilor sale, ceea ce duce la moartea fătului sau la nașterea unui copil cu eritroblastoză.

Antigenul Rh nu este o substanță omogenă, în prezent fiind cunoscute șase variante ale acestuia. Din punct de vedere chimic antigenul Rh ar fi o lipoproteină termolabilă.

Cunoașterea antigenelor are importanță în special pentru practica transfuziilor de sînge, a determinării relațiilor de rudenie, precum și pentru studierea bolilor de sînge.

Autoantigenele sînt antigene care pot să imunizeze organismul în care se găsesc. Astfel, dacă în condiții normale antigenele din cristalin, spermatozoizi și din alte țesuturi nu formează anticorpi față de celulele și țesuturile în care se găsesc, în condiții patologice însă, în urma lezării acestor țesuturi printr-un proces infecțios sau de altă natură, antigenele țesuturilor sus-menționate pot produce anticorpi. Acești anticorpi au o acțiune distructivă asupra celulelor și țesuturilor în care se găsesc antigenele corespunzătoare, ceea ce determină apariția și întreținerea unui proces patologic. Întrucît antigenele care determină formarea de anticorpi nu sînt introduse dinafară, ci se găsesc sau se formează chiar în același organism, ele au căpătat numele de autoantigene.

Anticorpii, proteine specifice

Anticorpii, proteine specifice care iau naștere în organism, reprezintă unul dintre elementele cele mai importante ale aparatului de adaptare și apărare a organismului, ocupînd o poziție, am putea spune centrală în procesul imunității. Ei reacționează specific cu antigenii care le-au dat naștere. Astfel, serul unui organism care a trecut printr-o infecție dobîndește o serie de proprietăți noi față de microbul care a provocat această infecție, și anume : precipită microbii care se află în suspensie (aglutinare) ; provoacă apariția unor sedimente în care se găsesc microbii (precipitare) ; lizează microbii în prezența alexinei (bacterioliză) și, în sfîrșit, sensibilizează microbii față de celulele fagocitare (opsonizare). Toate aceste reacții sînt determinate de apariția în ser a unor anticorpi speciali, denumiți aglutinine, precipitine, bacteriolizine și opsonine. Dacă microbul elaborează în cursul infecției o toxină, organismul animal

Scanned with OKEN Scanner

sau uman răspunde prin apariția în ser a unui anticorp special, denumit antitoxină. Acest anticorp neutralizează toxina respectivă.

Activitatea tuturor anticorpilor este specifică. Așa, de pildă, anticorpii formați după îmbolnăvirea de febră tifoidă reacționează doar cu bacilul tific, sau cu un alt germen foarte înrudit cu acesta, dar nu reacționează cu bacilul difteric. De asemenea, anticorpii a căror apariție este provocată de infecția difterică nu reacționează cu bacilul tific. Specificitatea aceasta face ca anticorpii să se deosebească radical de ceilalți factori umorali ai imunității (alexină, properdină și lizozim). Dar apariția anticorpilor în organism nu are loc numai după trecerea acestuia printr-o infecție, ci și prin imunizarea artificială cu microbi omorîți cu toxine, precum și cu diferite substanțe proteice.

Anticorpii care iau naștere în urma unei infecții sau imunizări artificiale poartă numele de *anticorpi imuni*, spre deosebire de *anticorpii normali*, care se întîlnesc frecvent în serurile oamenilor și ale animalelor. Importanța anticorpilor pentru stăvilirea infecțiilor și a epidemiilor a fost demonstrată prin nenumărate studii și experiențe. Este suficient să amintim doar dispariția din unele țări a unor boli infecto-contagioase, ca ciuma, holera, variola, difteria etc. care este în mare parte rezultatul vaccinărilor, adică al imunității artificiale.

Însemnătatea anticorpilor care acționează nemijlocit asupra microbilor este dovedită prin realizarea imunității pasive cu ajutorul serurilor recoltate de la animalele imunizate activ. Așa, de exemplu, serul de cobai imunizat cu microbul holerei apără un cobai care nu a fost imunizat cînd acestuia i se inoculează intraperitoneal o doză mortală de vibrioni holerici vii. O capacitate protectoare asemănătoare are și serul oamenilor care au suferit cîndva de holeră. Astăzi, preparatele de *γ-globuline hiperimune*, care conțin cantități mari de anticorpi specifici, au început să fie folosite pe scară din ce în ce mai largă în prevenirea bolilor infecto-contagioase ale primei copilării.

În ceea ce privește anticorpii normali, cercetările de pînă acum au reușit să clarifice numai în parte originea și rolul acestora în organism. Astfel, mulți oameni posedă în serul lor aglutinine față de bacili tifici și paratifici, însă nu se poate spune cu precizie dacă ei sînt mai rezistenți față de aceste infecții decît cei care nu posedă în ser aglutinările respective. Cu rare excepții, se pare că anticorpii normali nu sînt altceva decît anticorpi imuni, a căror apariție este condiționată de contactul organismului cu antigenul corespunzător.

Scanned with OKEN Scanner

Importanța fundamentală a acestor anticorpi constă în aceea că ei dau posibilitatea aparatului de apărare a organismului, reprezentant mai ales de alexină și fagocite, să acționeze asupra microbilor patogeni. În absența acestor anticorpi, aparatul nespecific nu ar avea nici o influență asupra florei microbiene patogene.

Problema naturii anticorpilor poate fi astăzi considerată aproape rezolvată, întrucît există suficiente date care arată că anticorpii nu sînt altceva decît globuline modificate. Din punct de vedere cantitativ, aproximativ 90% din masa anticorpilor ce se găsesc în serul uman normal fac parte din fracțiunea γ-globulinică, cu masa moleculară mică; restul de 10% se împarte între celelalte două fracțiuni ale sistemului gamma (β_2A- și β_2M). Anticorpii cu greutate moleculară mare și cu mobilitate electroforetică de tipul β_2M sînt denumiți *anticorpi macroglobulinici*. Acest tip de anticorpi apar ca o reacție de răspuns la antigenii celulari de natură lipidică sau polizaharidică. *Anticorpii eterogeni* sau *heterofili* ca: anticorpii Forssman, izoaglutininele anti-A și anti-B, aglutininele la rece, anticorpii Wasserman, precum și antiendotoxina unor bacterii, fac parte din categoria anticorpilor cu greutate moleculară mare. S-a dovedit că aceștia nu reprezintă simple agregate moleculare de γ-globuline, întrucît structura și compoziția chimică a acestora diferă.

Concepțiile actuale privind locul de formare al anticorpilor în organism sînt strîns legate de cele privitoare la biosinteza γ-globulinelor. Datele moderne au permis să se stabilească în mod cert că albuminele plasmatice sînt sintetizate în ficat, iar globulinele sistemului gamma și anticorpii, în țesutul reticulo-endotelial. Există multe dovezi care demonstrează rolul ganglionilor limfatici, al măduvei osoase, splinei și al țesutului conjunctiv în procesul biosintezei γ-globulinelor și al anticorpilor (numeroși autori au arătat că anticorpii pot fi sintetizați și *in vitro* de către țesuturile amintite).

Actualmente, se crede că biosinteza γ-globulinelor și a anticorpilor se realizează în special de către celulele plasmatice tinere sau pe cale de maturare. Plasmocitele sînt celule de dimensiuni medii, rotunde, ovale sau în formă de pară, cu nucleu sferic situat excentric ce se aseamănă adesea cu o roată de căruță. Citoplasma lor este foarte bogată în ARN, ceea ce ar indica rolul lor activ în sinteza globulinei. Într-adevăr, cercetările experimentale au arătat că țesuturile bogate în celule plasmatice pe cale de maturare produc o cantitate mare de anticorpi, în timp ce țesuturile sărace în celule plasmatice,

Scanned with OKEN Scanner

dar bogate în limfocite, nu produc anticorpi sau îi produc în cantități foarte mici. În aceste formații histologice, celulele plasmatice nu apar decît în a patra sau a șasea zi de viață extrauterină, fapt care explică de ce copiii imaturi care cîntăresc 1 000—1 500 g la naștere, precum și nou-născuții normali, supuși unei excitații antigenice intense, produc β_2M globuline.

Dovezile experimentale sînt în concordanță cu observațiile asupra bolilor care evoluează cu creșterea plasmocitelor în sînge. Într-adevăr, în aceste boli se constată, în același timp, o creștere a γ-globulinelor și a anticorpilor în ser și invers. Studii histochimice și de microscopie electronică au arătat că numai celulele plasmatice ar fi capabile de a sintetiza anticorpi. În ceea ce privește posibilitățile de biosinteză a acestor proteine la nivelul altor celule ale sistemului reticulo-endotelial, lucrurile nu sînt suficient de bine lămurite. Este posibil ca și limfocitele să ia parte la biosinteza γ-globulinelor și a anticorpilor, dar în măsură mult mai mică decît plasmocitele. Studii recente făcute cu ajutorul tehnicii anticorpilor fluorescenți par a demonstra producerea de γ_2M globuline de către splină și ganglionii limfatici bogați în celule limfoide și reticulare. Din punct de vedere morfologic, procesul de formare a anticorpilor în celulele țesutului limforeticular se manifestă prin multiplicarea celulelor plasmatice.

Mecanismul formării anticorpilor specifici a suscitat și continuă să suscite interesul cercetătorilor. În decursul istoriei imunologiei au fost elaborate diferite teorii care au căutat să explice mecanismul formării anticorpilor, fără însă să se ajungă la o explicație satisfăcătoare, deși progresele realizate în acest domeniu sînt deosebit de importante.

Toate teoriile elaborate pentru a explica originea imunității, a cărei principală caracteristică este procesul de formare a anticorpilor, suferă de un neajuns comun, ce decurge din incertitudinea care mai există încă în privința mecanismelor exacte ale sintezei proteinelor în organismul animal. De aceea, cercetările recente care încearcă să clarifice mecanismele legate de cele care stau la baza formării anticorpilor sînt nemijlocit legate de cele care vizează clarificarea mecanismelor biosintezei proteinelor în general. Astăzi este un fapt binecunoscut că sinteza proteinelor celulare și umorale se realizează la nivelul ribozomilor din citoplasma celulară, sub controlul genetic al ADN din nucleul celular. Acesta din urmă reproduce diferitele varietăți de ARN care corespund perfect structurilor ADN și care funcționează în același timp ca o matrice

Scanned with OKEN Scanner

în procesul de sinteză a tuturor varietăților de proteine din celulă localizate pe ribozomi. Astfel, ADN din nucleul celular, prin intermediul ARN matrice (a cărei structură reproduce pe cea a ADN-ului), exercită un control genetic riguros în sinteza proteinelor. Altfel vorbind, sinteza tuturor proteinelor din organismele vii se realizează printr-un mecanism matrico-genetic. Este evident, deci, că această regulă a sintezei proteinelor este de o importanță generală pentru toată natura vie. În același timp, este imposibil să se admită ipoteza după care alte legi ar sta la baza procesului de biosinteză a globulinelor modificate, adică a anticorpilor, sub acțiunea antigenului.

Biosinteza anticorpilor se realizează în condițiile în care aparatul genetic al nucleului celulelor producătoare de anticorpi se modifică sub acțiunea antigenului. După Burnet (1963), antigenul produce un fel de echivalent fiziologic al mutației, în urma căruia celulele producătoare de anticorpi capătă o nouă însușire ereditară, și anume aceea de a produce în mod electiv globuline specifice, în raport cu antigenul care a acționat asupra lor.

Dinamica formării anticorpilor în organism respectă un anumit tip de curbă, în funcție de caracterul antigenului și de specia animalului. Anticorpii nu apar imediat după introducerea antigenului în organism, ci după a 4-a sau a 5-a zi de la inoculare. Cantitatea de anticorpi din ser crește apoi rapid, atingînd maximum în zilele a 16—20-a. Dacă animalul nu primește o nouă infecție cu antigen, cantitatea anticorpilor din ser începe să scadă, la început rapid și mai apoi într-un ritm lent, așa încît peste 2—3 luni atinge nivelul inițial. Ca regulă generală trebuie să remarcăm formarea mult mai rapidă și mai intensă de anticorpi ca răspuns la a doua infecție de antigen. Pe baza acestor observații au fost elaborate schemele diferitelor procedee de imunizare artificială.

Formarea anticorpilor macroglobulinici pare să respecte, în timp, o anumită ordine față de formarea anticorpilor cu greutate moleculară mică. Astfel, injectarea de hematii de oaie sau de bacterii din grupul coli la iepure determină mai întîi apariția în serul animalului de hemolizine și bactericidine cu greutate moleculară mare și mai apoi apariția de hemolizine și bactericidine cu greutate moleculară mică. De asemenea, imunizarea animalelor cu proteine purificate sau cu bacteriofagi urmează aceeași ordine cronologică privind apariția celor două tipuri de anticorpi : într-o primă fază crește rapid titrul anticorpilor macroglobulinici, după care urmează o fază de tranziție ce se instalează după aproximativ o

Scanned with OKEN Scanner

săptămînă; apoi apar anticorpii cu greutate moleculară mică, în timp ce anticorpii macroglobulinici încep să scadă.

Formarea de anticorpi are loc indiferent de calea de pătrundere a antigenului în organism: injectare sub piele, intravenos, intraperitoneal, administrarea bucală sau inocularea intratracheală, intranazală etc. Formarea cea mai intensă de anticorpi are loc în urma introducerii intravenoase a antigenului și cel mai puțin intensă pe cale orală. În cursul infecției naturale anticorpii încep să apară de obicei în zilele a 4—5-a de la îmbolnăvire, ating nivelul maxim în primele zile de convalescență, după care începe o scădere rapidă a concentrației lor în ser. În infecțiile bacteriene ei dispar aproape complet după 2—3 luni de la îmbolnăvire. În infecțiile virotice, însă, anticorpii pot fi puși în evidență, în unele cazuri, în decursul întregii vieți.

Formarea anticorpilor este influențată nu numai de prezența antigenilor în organism, ci și de factori externi, capabili să influențeze în mod fundamental anticorpogeneza. Amintim numai rolul alimentației. Alimentația proteică completă are o însemnătate esențială pentru producerea anticorpilor. Numeroase cercetări au arătat că în condițiile unei alimentații proteice deficitare se observă o scădere notabilă a producerii de anticorpi. Dintre factorii interni, capabili să influențeze formarea anticorpilor, este necesar de spus cîteva cuvinte despre rolul sistemului neuro-umoral în reglarea anticorpogenezei. După datele experimentale moderne, putem spune că cortizonul suprimă proliferarea plasmocitelor și formarea de anticorpi la nivelul ganglionilor limfatici. Pe de altă parte, hormonul de creștere (somato-tropină), cu acțiune proteino-anabolică, secretat de hipofiză, stimulează înmulțirea plasmocitelor (reacția plasmocitară) și formarea anticorpilor.

Combinarea antigenilor cu anticorpii—mecanism de bază în procesele imunologice

Înțelegem prin reacția antigen-anticorp rezultatul unirii specifice a unui anticorp conținut într-un ser sanguin sau într-un alt lichid al organismului cu antigenul corespunzător. În organismele imune concentrația maximă de anticorpi se găsește în sîngele circulant. În celelalte umori ale organismului nivelul anticorpilor este mai scăzut; descreșterea începe în limfa toracică și se continuă cu

Scanned with OKEN Scanner

limfa cervicală, lichidul pericardic, umoarea apoasă și vitroasă a ochiului și lichidul cefalorahidian. Nu se cunoaște cu certitudine dacă anticorpii pot pătrunde suficient de ușor în celule, dar se știe că o parte din anticorpii formați se fixează pe celulele diferitelor țesuturi, fapt deosebit de important în reacțiile alergice zise imediate, unde unirea dintre antigeni și anticorpii fixați pe celule sau în interiorul acestora produce efecte nocive, însoțite de eliberarea de histamină și serotonină. S-a constatat că anticorpii din curentul sanguin ajung în cantități mici pe suprafețele mucoaselor, în zonele și țesuturile lipsite de vase sanguine, ca de pildă corneea, țesutul fibros etc. În aceste țesuturi concentrația medie a anticorpilor poate fi, în medie, 1/100 față de cea sanguină. Anticorpii apar și în fecale, uneori chiar înainte de a fi decelați în ser. În urină, de asemenea, s-au găsit în unele cazuri concentrații de anticorpi mai mari decît în ser.

Fenomenele pe care le provoacă întîlnirea antigenului cu anticorpul au căpătat denumirea și de *reacții de imunitate*, deși nu constituie întotdeauna un indice al imunității. Dar, întrucît aceste fenomene ating un maxim de intensitate tocmai atunci cînd se dezvoltă imunitatea și întrucît ele reprezintă cei mai importanți indici ai imunității se poate considera că această denumire este îndreptățită. Caracteristica principală a reacției antigen-anticorp este specificitatea sa, adică numai anticorpul care corespunde unui anumit antigen se unește cu acesta, ceilalți rămînînd fără acțiune. Dacă combinarea dintre antigen și anticorp se desfășoară *in vivo*, aceasta poate avea drept rezultat așa-numitele reacții alergice sau anafilactice care se observă în unele cazuri. Dacă această combinație se desfășoară *in vitro*, ea se poate manifesta în moduri foarte variate, constituind multiplele reacții serologice pe care le vom vedea mai departe. Manifestările reacțiilor serologice nu devin vizibile decît dacă cele două elemente, antigenul și anticorpul, se găsesc în anumite proporții și concentrații. Într-adevăr, reacția antigen-anticorp poate fi inhibată fie printr-un exces de anticorpi, fie printr-un exces de antigeni. Acest fenomen poartă numele de *fenomen de zonă*, care este mai mult sau mai puțin pronunțat, după tipurile de reacție serologică. Cînd într-un amestec antigenul sau anticorpul se găsește în cantitate foarte mică, reacția nu mai devine accesibilă observației *in vitro*. Aceasta înseamnă că s-a depășit pragul sensibilității sale.

Importanța practică a reacțiilor dintre antigen și anticorp constă nu numai în aceea că ele duc la neutralizarea antigenului, ci și

Scanned with OKEN Scanner

în faptul că cu ajutorul lor se poate decela fie un anticorp necunoscut cu ajutorul unui antigen cunoscut, fie un antigen necunoscut cu ajutorul unui ser imun cunoscut. Astăzi se practică pe scară largă reacții calitative, pentru a decela prezența sau absența unui anumit anticorp într-o umoare a organismului, precum și reacții cantitative în scopul de a cunoaște intensitatea răspunsului imunologic al organismului la acțiunea unui agent infecțios.

Pentru punerea în evidență a unui anticorp se folosește totdeauna reacția antigen-anticorp, a cărui formă de manifestare poate fi variată, dar în care se face totdeauna apel la un antigen determinat, care permite să se detecteze prezența anticorpului corespunzător. Unirea unui antigen cu anticorpul corespunzător se poate traduce prin manifestări foarte variate, în raport cu proprietățile biologice (infecțioase, toxice, hemolitice, necrozante etc.) sau cu starea fizică (element figurat, soluție etc.) a antigenului utilizat. Anumite reacții pot fi realizate în întregime *in vitro*, altele impun utilizarea unui animal de experiență sau a pielii bolnavului. După natura fenomenului observat în aceste reacții, anticorpul corespunzător este indicat printr-un nume special, ca de pildă, anticorp neutralizant, antitoxină, precipitină, aglutinină sensibilizatoare, anticorpi inhibitori etc. Dar unul și același anticorp poate fi pus în evidență prin mai multe tipuri de reacții diferite.

Reacția de aglutinare constă în aglomerarea treptată a antigenilor, cu formarea unor granule vizibile cu ochiul liber. În fenomenul de aglutinare, antigenele care se găsesc la periferia microbului joacă rolul principal, deoarece antigenele situate în interiorul microbului pot fi în întregime mascate, iar anticorpii corespunzători să nu provoace aglutinarea.

Însemnătatea aglutinării în procesul infecțios și în imunitate este deosebită. Un mare număr de experiențe arată că aglutininele (anticorpii) reprezintă un factor important în localizarea bacteriilor în țesuturi, în special la locul lor de pătrundere în organism. Punerea în evidență a fenomenului aglutinării s-a făcut prin inoculare intradermică a streptococilor și pneumococilor virulenți la șoareci normali și imuni.

Reacția de precipitare constă în formarea unui complex antigen-anticorp insolubil. Această reacție a fost descrisă prima dată de către Kraus în 1897. El a denumit această reacție, reacție de precipitare, iar anticorpul care o condiționa precipitină, prin analogie cu aglutinina. Mai tîrziu s-a arătat că nu numai microbii, ci și orice altă proteină eterogenă poate provoca formarea precipitine-

Scanned with OKEN Scanner

lor prin inocularea lor la animal. Diferența fundamentală între reacția de precipitare și cea de aglutinare constă în aceea că în cazul aglutinării se depun particule relativ mari, bacteriile, în timp ce în reacția de precipitare se depun particule mult mai mici, miceliile unei soluții coloidale. Reacția de precipitare permite punerea în evidență a celor mai mici cantități proteice, fiind mai sensibilă decît multe reacții chimice. Cu ajutorul acestei reacții se pot pune în evidență proteine în diluții care pot merge pînă la 1 : 20 000 000. Marea sensibilitate a reacției de precipitare a permis utilizarea ei pentru determinarea gradului de înrudire între specii de animale și plante. Așa, de pildă, pe această cale s-a putut constata că reacția sîngelui de maimuță cu serul obținut prin imunizarea cu sînge de om este cu atît mai slabă, cu cît specia respectivă de maimuță este situată mai departe de om pe scara zoologică.

Reacția de precipitare a căpătat o largă utilizare și în practica medico-judiciară, la identificarea caracterului și apartenenței de specie a diverselor pete proteice. Trebuie însă remarcat faptul că specificitatea reacției de precipitare este totuși limitată, datorită existenței reacțiilor de grup, similare altor reacții de imunitate.

Deși există unele date convingătoare care dovedesc că reacția de precipitare se produce nu numai *in vitro* ci și *in vivo*, nimeni nu a observat direct formarea precipitatelor în sînge. Se poate presupune că ele dispar rapid, fiind absorbite de către sistemul reticulo-endotelial și distruse prin fagocitoză. Dar fenomenul precipitării joacă, fără îndoială, un rol însemnat în fenomenele inflamatoare, în necroze, în spasmele musculaturii netede și în alte procese care se produc în infecții.

Reacțiile de liză sînt strîns legate de prezența în ser a bacteriolizinelor și hemolizinelor. Însemnătatea proprietăților bacteriolitice ale serului pentru imunitate a fost stabilită în 1890, cînd s-a observat că microbul holerei se dezvoltă cu ușurință în serul cobailor normali, dar moare dacă este însămînțat în serul cobailor imuni. Pfeiffer și Issaff au stabilit pentru prima dată, în 1894, apariția în serul animalelor imune a bacteriolizinelor, anticorpi îndreptați împotriva microbilor și nu a toxinelor lor, demonstrînd prezența unei imunități bactericide. *Bacterioliza* este deci o reacție antigen-anticorp care se soldează cu dizolvarea microbilor. Pentru ca această liză a microbilor să aibă loc sînt necesare două elemente : unul specific, care se află în serul imun și care nu este altceva decît anticorpul, și altul nespecific, propriu oricărui ser, atît normal, cît și imun, alexina sau complementul. Atît anticorpul cît și alexina

Scanned with OKEN Scanner

se găsesc în serul imun proaspăt. Dacă acesta este păstrat vreme mai îndelungată sau încălzit la o temperatură de peste 56°, el își pierde proprietățile sale litice, datorită distrugerii alexinei, iar pentru a redeveni activ este necesar adaosul de ser normal proaspăt, care înlocuiește, în serul imun, alexina sau complementul pierdut. Serurile imune posedă deci o acțiune bacteriolitică. Anticorpul care condiționează această bacterioliză împreună cu alexina a fost denumit de către Bordet sensibilizator, iar de către alți autori, *lizină*. Fenomenul bacteriolizei joacă, fără îndoială, un rol important în imunitate, dar nu și în oprirea invaziei microbiene, deoarece s-a dovedit că cea mai mare parte a microbilor manifestă o rezistență față de acțiunea litică a serului. Fenomenul de bacterioliză a fost reprodus experimental și *in vivo*, putîndu-se observa atît tabloul microscopic al lizei (în special la microbii holerei), cît și efectul bactericid, prin evaluarea numărului coloniilor microbiene distruse.

Hemoliza constă în acțiunea litică a serurilor normale asupra globulelor roșii eterologe. După descoperirea bacteriolizinelor specifice, Bordet a arătat că în urma imunizării animalelor cu globule roșii serul lor dobîndește o capacitate foarte pronunțată de a dizolva specific globulele roșii, care au fost întrebuințate pentru imunizare. Acest fenomen este analog cu cel al bacteriolizei.

Fenomenul hemolizei constă în aceea că sîngele purificat de fibrinogen după adăugarea unui ser hemolitic proaspăt devine transparent. Dacă se examinează la microscop sedimentul unui asemenea sînge lizat, obținut prin ultracentrifugare, se constată că globulele roșii apar sub forma unor cercuri transparente palide. Hemoliza, fiind de fapt o hemoglobinoliză, a distrus legătura dintre hemoglobină și corpul globulului roșu, ceea ce a atras după sine ieșirea hemoglobinei din corpul hematiei. Hemoliza, ca și bacterioliza au loc prin acțiunea combinată a două substanțe și anume : una specifică, anticorpul rezistent la încălzire (hemolizina), și cealaltă nespecifică, proprie oricărui ser normal sau imun care se inactivează prin încălzire la 56° (alexina sau complementul). Reacția hemolitică se produce în două faze : în prima, anticorpul (hemolizina) se unește cu hematiile, după care, în faza a doua, hematiile astfel sensibilizate fixează alexina din același ser, dacă aceasta nu a fost inactivată. Proprietățile hemolizinei sînt apropiate de cele ale celorlalți anticorpi, aceasta nefiind altceva decît o globulină serică modificată.

Scanned with OKEN Scanner

Importanța practică deosebită a reacțiilor de hemoliză constă în faptul că ele sînt folosite astăzi pe scară largă pentru detectarea anticorpilor în ser. Astfel, *reacția de fixare a complementului* sau de deviere a alexinei folosită pe scară foarte largă pentru detectarea anticorpilor în ser are la bază fenomenul de hemoliză. Complexele antigene-anticorpi, altele decît globulele roșii și hemoliza corespunzătoare, pot avea de asemenea proprietatea de a fixa complementul. În acest caz, fenomenul nu se traduce prin nici un semn vizibil direct; se utilizează atunci reacția de fixare a complementului pentru a decela, de exemplu, prezența sau absența unui anticorp în serul unui bolnav. În primul timp al reacției sînt puse în contact antigenul, serul suspect și alexina sau complementul. Dacă serul conține anticorpul, acesta din urmă se unește cu antigenul, iar complexul format fixează complementul. În al doilea timp al reacției sînt introduse hematii și ser hemolitic corespunzător. Complementul fiind fixat, nu se observă hemoliza și spunem că reacția este pozitivă. Dacă, dimpotrivă, serul examinat nu conține anticorpi, complementul introdus rămîne liber și provoacă liza hematiilor introduse o dată cu serul hemolitic, spunem că reacția este negativă.

Reacțiile de imunitate au o deosebită importanță practică în combaterea bolilor infecțioase și epidemice prin aplicarea unor metode imunoprofilactice și imunoterapeutice.

În ceea ce privește metodele imuno-profilactice ca : imunizarea activă prin vaccinări și imunoprofilaxia pasivă prin diferite seruri urmăresc, pe de o parte, asigurarea unei protecții de lungă durată, iar pe de altă parte, realizarea unei protecții pasive de scurtă durată împotriva unor infecții nemijlocit previzibile cu care o persoană a venit sau poate să vină în contact. Imunoterapia se referă mai ales la tratamentul bolnavilor prin administrarea de anticorpi fabricați în afara organismului lor, dar de multe ori se recurge la așa-numita autovaccinare, procedeu în care un vaccin preparat din germenii proveniți dintr-o infecție localizată este injectat bolnavului în scopul de a stimula un răspuns activ al sistemului său limfoid pînă atunci puțin reactiv. În scopul imunoprofilaxiei bolilor epidemice, metodele de imunizare activă folosesc diferite tipuri de vaccinuri ca, de pildă, toxinele microbilor (anatoxine, corpuri bacteriene, rickettsiene și virale omorîte; corpuri vii, dar atenuate, din toate marile grupuri de microorganisme, corpuri vii virulente) administrate sub protecția concomitentă a globulinei etc.

Scanned with OKEN Scanner

Anatoxinele au fost utilizate cu succes în combaterea difteriei și a tetanosului. Vaccinurile omorîte, bacteriene (T.A.B.), rickettsiene (vaccinuri împotriva), tifosului exantematic virale, vaccinul antipoliomielitic, antigripal etc. sînt astăzi utilizate pe o scară largă. De asemenea, vaccinurile vii atenuate, ca de pildă, cele antituberculoase de tip BCG, vaccinul antivariolic contribuie cu succes la prevenirea și combaterea acestor boli. În sfîrșit, se poate realiza o imunizare activă în scop profilactic, administrîndu-se unele antigene izolate, altele decît toxine, ca de pildă unele substanțe polizaharide izolate de la pneumococi, unele extracte apoase din bacilii Koch, învelișul proteic al virusurilor etc. Metodele imunologice sînt folosite nu numai în scop profilactic, ci și terapeutic. În acest caz este vorba fie de imunoterapie activă, prin folosirea unor autovaccinuri care au rolul de a stimula sistemul reticulo-endotelial, fie de o imunoterapie pasivă, care are rolul de a intercepta unele toxine sau infecții. În cazurile în care toxinele au produs alterări celulare, acestea nu mai pot fi înlăturate de către antitoxină. De asemenea, virusurile și bacteriile care au reușit să pătrundă în celule sînt inaccesibile anticorpilor circulanți. Terapia pasivă cu seruri imune, omologe sau eterologe, este folosită astăzi cu succes în tetanos, difterie, botulism, unele forme de meningită și dizenterie, mușcături de șerpi sau de păianjeni etc. În infecțiile virale, ca de pildă rubeola, rujeola, poliomielita și hepatita epidemică, sînt folosite cu rezultate bune — globulinele imune sau chiar amestecurile de γ-globuline normale.

Conflictul antigen-anticorp, alergia și autoagresiunea

Alergia este o stare de reactivitate modificată a organismului față de un agent oarecare, condiționată de dezvoltarea în organism a unor anticorpi specifici față de agentul respectiv. Ea se caracterizează prin aceea că luînd contact din nou cu agentul cauzal, organismul se comportă altfel decît cel normal. Pentru înțelegerea acestei definiții să luăm un exemplu. Să presupunem că organismul omului vine de mai multe ori în contact cu o substanță chimică străină lui, ceea ce atrage dezvoltarea unor anticorpi care acționează împotriva acestei substanțe. Reacția modificată se traduce prin fenomene patologice ca, de pildă, urticarii, eczeme, astm bronșic, diaree etc. Se deosebesc două forme de alergie : alergia

Scanned with OKEN Scanner

propriu-zisă, care nu este altceva decît starea de reactivitate specială a organismului față de un agent oarecare, și reacția alergică, adică fenomenul sau procesul alergic. Starea de alergie presupune : contactul prealabil al organismului cu agentul reactogen ; formarea de anticorpi specifici împotriva acestui agent ; absența fenomenelor morbide, a căror apariție se manifestă numai atunci cînd organismul are contact din nou cu agentul alergizant și se exteriorizează prin nenumărate manifestări speciale, reacționale, cu totul deosebite de cele ale contactului prim. Reacția alergică presupune în mod obligatoriu recontactul organismului alergizat cu agentul alergizant respectiv, adică acela care a creat alergia sau care a produs modificarea reactivității. Unirea dintre alergen și anticorpi, ca și eliberarea concomitentă a unor substanțe iritante pentru organism au acțiune modificatoare asupra țesuturilor, organelor și umorilor, determinînd exteriorizarea fenomenului printr-o mare diversitate de modificări, fie numai funcționale, fie organice și funcționale, unele necaracteristice (urticaria), altele caracteristice (astmul bronșic alergic). Așadar, în esență, alergia sau starea de alergie nu reprezintă pentru organismul animal o boală prin ea însăși. Ea este mai degrabă o stare morbidă, latentă și inaparentă, dar capabilă de a da naștere la o mulțime de reacții cunoscute sub numele de tulburări alergice. Reacția alergică poate determina tulburări în funcția diferitelor organe și sisteme, de intensitate diferită. Reactivitatea alergică intensă poartă numele de hiperergie, iar cea scăzută, hipoergie sau anergie. În limbajul curent se folosește termenul de alergie pentru a desemna starea de hiperergie.

Între alergie și imunitate există multe asemănări, dar și deosebiri. Pentru a înțelege bine raporturile dintre aceste două procese să spunem cîteva cuvinte despre alergene, despre anticorpii care se nasc în urma acțiunii acestor alergene asupra organismului și despre reacția alergică.

Alergenele sau antigenele alergizante sînt substanțe organice sau anorganice provenite din mediul înconjurător sau chiar din interiorul organismului, care manifestă capacitatea de a forma anticorpi specifici. Alergenele se mai numesc și *reactogene*. Ele sînt de două feluri : complete și incomplete. Cele complete sînt în majoritatea lor substanțe macromoleculare de natură proteică și mai rar de natură polizaharidică, cu structură și configurație spațială particulară. Caracterul antigenic al acestor substanțe este determinat de existența anumitor grupări chimice în molecula lor,

Scanned with OKEN Scanner

care constituie și locul de unire cu anticorpii corespunzători. *Alergenele incomplete sau haptenele* sînt substanțe organice sau minerale cu moleculă mică, neantigenice prin ele însele, dar care devin antigenice dacă se unesc cu o substanță macromoleculară, de obicei protidică. Ca și alergenele complete, alergenele incomplete conțin în molecula lor anumite grupări chimice determinante, care acționează antigenic după fixarea lor pe suportul macromolecular. Alergenele incomplete sînt formate din diferite medicamente sau substanțe chimice.

Deși numărul substanțelor capabile de a provoca alergie este aproape infinit, prezentarea cîtorva categorii de substanțe de natură endogenă sau exogenă nu este lipsită de interes. Practic, orice substanță heterogenă, adică de o structură diferită față de cea a substanțelor proprii organismelor, poate deveni alergen, dar sînt unele care manifestă mai frecvent proprietăți alergizante.

Alergenele exogene sînt de natură foarte diferită. Cel mai adesea este vorba de alimente, și anume de cele care conțin în compoziția lor proteine; carnea, ouăle, laptele și brînza. Peștele, moluștele, scoicile, cărnurile conservate și afumate sînt deosebit de alergizante, deoarece proteinele lor au suferit un oarecare grad de denaturare, care le conferă o capacitate alergenică deosebită. Dar nu numai proteinele din alimente pot constitui alergene, ci și grăsimile, ca de pildă, cele din ou. Dintre fructe, căpșunile, fragii și zmeura sînt cele mai alergizante. Alergenele alimentare pătrund în organism prin tubul digestiv.

Substanțele chimice și medicamentoase pot produce, aproape fără excepție, alergizarea, dintre acestea serurile, unele produse de sînge, extractele de ficat și vaccinurile fiind cele mai alergizante. Dintre substanțele chimice medicamentoase amintim piramidonul, aspirina, chinina, insulina, novocaina, hidrazida, sulfamidele, antibioticele.

O categorie foarte importantă de alergene o constituie cele care pătrund în organism pe cale pulmonară, prin respirație. Este vorba de alergene microscopice de origine extrem de variată: prafuri diferite, polenuri, fulgi și pene de animale, blănuri, esențe volatile etc. De asemenea, ciupercile microscopice care parazitează animalele, plantele și diferite obiecte din mediul înconjurător pot determina sensibilizare alergică. Se consideră că un mare număr de bolnavi cu astm bronșic manifestă o hipersensibilizare la anumiți alergeni, care pătrund în organism pe cale pulmonară. Microbii pot constitui și ei factori alergizanți. Se poate spune că

Scanned with OKEN Scanner

mai toate infecțiile microbiene determină dezvoltarea unei stări de reactivitate alergică a organismului, care face ca acesta să se comporte deosebit la un recontact cu agentul microbian. Trebuie să reținem că în timpul unei infecții, așa cum se dezvoltă fenomenul imunității se poate dezvolta și starea de alergie. Astfel, sînt bine cunoscute astăzi stările alergice care se dezvoltă în tuberculoză, infecțiile cu meningococi, gonococi, bacili tifici, pneumococi, diferiți microbi piogeni, bacili difterici etc. Starea alergică în bolile infecțioase este întreținută de prezența microbului în organism, dar ea poate să se mențină un timp și după dispariția acestuia.

În afară de substanțele alimentare, substanțe chimice, diferite medicamente, prafuri, microbi etc., frigul, căldura, iradiațiile, oboseala etc. pot condiționa stări alergice. Mecanismul prin care agenții fizici condiționează stările alergice nu este suficient cunoscut.

Alergenele endogene sînt substanțe care provin din mediul interior. Ele pot fi proteine dezintegrate și toxine care rezultă din focarele de inflamație sau de distrugere a țesuturilor prin arsuri, degerături, iradieri. Starea de alergie provocată de alergenele endogene a căpătat denumiri diferite ca : autoalergie, endoalergie sau alergie autogenă. Endoalergenele pot fi de natură bacteriană sau proteine proprii organismului, dar dezintegrate și mult modificate. Unii autori consideră drept alergene endogene alergenele de origine parazitară numite și alergene de invazie. S-a constatat că focarele infecțioase existente în diferitele țesuturi ale organismului animal sînt de cele mai multe ori surse de alergizare ale acestuia. Mecanismul prin care focarele infecțioase alergizează organismul ar consta din formarea de anticorpi împotriva alergenelor provenite din focarul infecțios, și anume împotriva toxinelor microbiene produse de microbii din focar, precum și împotriva unor substanțe proteice. Într-adevăr, sînt binecunoscute astăzi stările alergice care iau naștere datorită focarelor infecțioase cantonate în amigdale, rădăcinile dinților, apendice, vezicula biliară etc. Sînt autori care susțin că focarul infecțios ar constitui numai un factor de exteriorizare a unor stări alergice legate de alți factori, ca de pildă factorii alimentari, arsurile, iradierea cu radiații X, ca și acțiunea unor substanțe chimice care duce la apariția unor proteine denaturate. Alți autori pun stările alergice din timpul menstrelor pe seama acțiunii alergizante posibile, dar nu sigure, a unor hormoni, ca foliculina și luteina, sau pe seama proteinelor eliberate din mucoasa uterină

Scanned with OKEN Scanner

degenerată. Toxinele parazitare, elaborate de paraziții interni, creează deseori alergie în organismele infestate cu *Echinococus*, viermi etc. Numeroase manifestări morbide care apar în cursul infestărilor parazitare se explică azi prin alergii, adică prin reacții antigen anticorp.

Anticorpii alergizanți, numiți și *anticorpi sensibilizanți*, au caracteristici chimice și biologice mult asemănătoare cu anticorpii care apar în stările de imunitate. S-a demonstrat că anticorpii alergizanți sînt globuline speciale, cu o compoziție chimică asemănătoare cu a globulinelor normale, dar cu o structură spațială modificată, în raport cu structura antigenelor care le-a determinat apariția. Ca și în cazul anticorpilor umani, anticorpii alergizanți au o capacitate de reacție determinată nu de întreaga lor moleculă proteică, ci de așa-numitele zone reactive dispuse la suprafața moleculei și avînd o configurație analogă, simetrică cu cea a antigenelor care le-au declanșat. În felul acesta se explică specificitatea mult diferențiată a anticorpilor alergizanți. Dinamica apariției și dezvoltării anticorpilor alergizanți se aseamănă mult cu cea a anticorpilor imunizanți. Astfel, este necesar un interval de timp de cel puțin trei zile pentru ca ei să înceapă să apară după introducerea alergenului, și de 9—12 zile pentru ca apariția acestor anticorpi să devină manifestă în momentul reintroducerii alergenului.

Sediul de formare a anticorpilor alergizanți este sistemul reticulo-histocitar și în particular celulele plasmatice, adică aceleași celule care dau naștere anticorpilor imunizanți. O dată formați, anticorpii alergizanți se fixează, în cea mai mare parte, pe celulele diverselor organe care devin în acest fel organe de șoc. Interesant de remarcat că anticorpii alergizanți sînt mai ales anticorpi intracelulari, spre deosebire de cei imunizanți, care sînt îndeosebi umorali. Acest fapt explică de ce fenomenul alergiei interesează în principal organul de șoc pe care sînt fixați anticorpii și explică de ce în cazul reintroducerii antigenului specific în organism reacționează numai organele și țesuturile respective. Faptul că anticorpii sensibilizanți sînt fixați pe celulele organului de șoc este dovedit de o seamă de studii și experiențe. Așa, de exemplu, în alergia pielii au putut fi puși în evidență anticorpi specifici sensibilizanți în lichidul veziculelor și al bulelor erupțiilor cutanate. Transplantarea prin grefă a unei porțiuni de piele de la un organism cu alergie tegumentară la unul sănătos a făcut ca la administrarea

Scanned with OKEN Scanner

antigenului la acesta din urmă să reacționeze alergic numai porțiunea de piele transplantată.

În producerea anticorpilor alergizanți un rol determinant îl are frecvența și durata expunerii la alergenul antigenic. Repetarea contactelor intensifică caracterul alergic al răspunsurilor, după cum rărirea contactelor sau suprimarea lor determină o slăbire sau dispariția stării de alergie.

Reacția alergică constă dintr-un complex de modificări celulare și umorale determinate de combinarea antigenului cu anticorpul și de eliberarea unor substanțe chimice cu acțiune modificatoare asupra țesuturilor. Reacția alergică se desfășoară schematic în patru etape succesive strîns legate între ele :

Prima etapă, numită și celulară sau imunologică, constă în contactul care se realizează între antigen și anticorp în celulele organului sau țesutului în care se află fixați anticorpi. Combinarea antigenului cu anticorpul se desfășoară foarte rapid, în circa 20 s. Ea are un caracter de strictă specificitate. Sînt și cazuri cînd anumiți anticorpi reacționează cu mai mulți antigeni, determinînd reacții multiple cu caracter nespecific sau, mai corect, cu o specificitate de grup; aceștia sînt anticorpii dotați cu proprietatea numită polivalență reacțională. Cantitatea de antigen, adică de alergen, necesară pentru ca reacția alergică să aibă loc variază de la un alergen la altul. În unele cazuri, cantitățile de alergen capabile să declanșeze reacția alergică sînt extrem de mici. Așa, de pildă, s-a reușit să se declanșeze o reacție alergică cutanată la o persoană sensibilă la codeină cu cantități mici, de 1/10 mml sau, în alt caz de sensibilitate, la albumina din ou, chiar la administrarea prin injecții de ovalbumină, în soluție de 1/100 000 000. Alteori, cantitatea de alergen necesară pentru declanșarea reacției alergice este mult mai mare, de ordinul gramelor, în așa fel încît administrarea de cantități mici și repetate este bine suportată și poate duce la desensibilizarea organismului.

Etapa a doua a reacției alergice, numită și biochimică, constă în apariția unor substanțe chimice cu acțiune toxică sau cel puțin modificatoare asupra structurilor și principalelor funcții ale organismului. Dintre nenumăratele substanțe care pot însoți reacția antigen-anticorp, au atras atenția în mod deosebit histamina, acetilcolina și aerotonina. Histamina determină o contracție spastică a mușchilor netezi și o mărire a permeabilității capilarelor sanguine. Acetilcolina deține un rol primordial în reacțiile alergice, deoarece ea produce majoritatea tulburărilor care se manifestă în aceste

Scanned with OKEN Scanner

stări. Studii experimentale au arătat că introducerea intravenoasă de aceticolină determină la animal fenomene asemănătoare cu cele pe care le produce șocul alergic. Serotonina intervine de asemenea în etapa biochimică a reacției alergice, participînd, alături de histamină și acetilcolină, la realizarea tulburărilor ce însoțesc reacția alergică.

Etapa a treia a reacției antigen-anticorp, numită și etapa umorală, constă în apariția unor modificări de ordin funcțional și organic în diferitele celule, țesuturi, organe și umori, ca rezultat al acțiunii combinate a substanțelor chimice ce se eliberează în timpul reacției antigen-anticorp. Tulburările acestea stau la baza manifestărilor alergice care se traduc printr-o contracție spasmodică a fibrelor musculare ale organelor interne : prin relaxarea musculaturii vaselor mici, care poate duce la o scădere mare a tensiunii arteriale și la starea de șoc ; prin creșterea permeabilității peretelui capilar, care determină ieșirea plasmei și a elementelor figurate din sînge în interiorul țesuturilor ; prin scăderea coagulabilității sîngelui, produsă de creșterea cantității unei substanțe anticoagulate numită heparină ; prin creșterea secrețiilor mucoasei digestive și a mucoasei bronșiilor ; prin diferite modificări metabolice.

În sfîrșit, etapa a patra a reacției alergice constă în exteriorizarea tuturor fenomenelor descrise mai sus, realizînd tablouri morbide foarte variate, de la o simplă urticarie, pînă la șocul anafilactic grav, care poate fi urmat de moarte.

În raport cu rapiditatea cu care se instalează reacția alergică și cu timpul în care apar fenomenele nedorite, distingem trei categorii principale de fenomene alergice și anume : alergia imediată indusă, provocată de histamină și de substanțele înrudite ; alergia imediată spontană, în care răspunsul inflamator este atribuit tot histaminei ; alergia întîrziată, mediată de celulele imunologic alterate, independentă de eliberarea de histamină.

Alergia imediată indusă reprezintă o stare eminamente artificială determinată de condiții care sînt rareori întîlnite în natură sau în practica medicală. Ca exemplu de alergie imediată indusă în mod experimental și clinic (observații pe bolnavi) menționăm anafilaxia la ser, anafilaxia la animalele de laborator față de penicilină și procaină, iar la om anumite reacții locale imediate de sensibilizare medicamentoasă, unele teste cutanate utilizate în clinică pentru diagnosticul unor alergii spontane.

Anafilaxia reprezintă cel mai tipic exemplu de alergie imediată indusă. Termenul de anafilaxie, introdus inițial de către Richet, este

Scanned with OKEN Scanner

antonimul cuvîntului profilaxie. Pentru producerea acestui fenomen sînt necesare condiții speciale. Ele diferă de la o specie la alta. Astfel, pentru sensibilizare este nevoie de o doză unică și foarte mică din oricare antigen. Așa, de exemplu, sînt suficiente doze de 1/100 sau chiar de 1/1 000 000 din serul de cal sau ovalbumină pentru a produce sensibilizarea. Starea de hipersensibilitate se instalează după 14—21 zile, cînd pot fi puși în evidență anticorpi circulanți. Declanșarea reacției antigen-anticorp, exteriorizată prin așa-numitul șoc anafilactic, poate fi provocată prin administrarea unei cantități mari din antigenul sensibilizant sau din haptena corespunzătoare.

Reacția anafilactică apare după o perioadă de incubare în raport cu specia animalului și cu calea de administrare a anafilactogenului. La cobai timpul de incubare este de 6—7 zile, cu o sensibilitate pronunțată după trei săptămîni, care persistă, în medie, timp de 6 luni sau chiar toată viața. După declanșarea reacției, animalul de experiență moare în decurs de 3 minute, în timp ce martorii normali rămîn indemni după administrarea aceleiași doze de ser.

Simptomele șocului anafilactic diferă de la animal la animal, moartea survenind foarte rapid cînd administrarea se face intravenos. Dacă experiențele se fac pe cobai, după injecția intravenoasă cu doze mici se constată o agitație, tuse, mișcări bruște de scărpinat, emisiune de fecale și urină. Dacă doza este mai mare apar aceleași simptome, dar mai pronunțate și însoțite de convulsii, sufocații, zbîrlirea părului, culcarea pe o parte, agitarea labelor, tuse, fenomene urmate de moarte în cîteva minute. Cauza morții este asfixia.

La om, crizele de astm datorită spasmului musculaturii bronșice, stările de șoc, manifestate prin scăderea presiunii sanguine și deseori o urticarie masivă pot duce la moartea bolnavului în cîteva minute sau ore.

Apariția unei anafilaxii serice rapide, mortale a fost observată după administrarea de injecții de ser antitetanic; de asemenea, fenomene de hipersensibilitate medicamentoasă însoțite de reacții alergice de tip imediat au fost observate la om după administrarea de penicilină, procaină, sulfamide, aspirină și alte medicamente.

Alergia imediată spontană poate fi exemplificată prin așa-numitele alergii clinice sau atopii. Asemenea alergii par a fi urmarea unui contact sensibilizant inițial cu antigene localizate pe suprafețele mucoaselor. Deși acest gen de contacte nu provoacă o îmbolnăvire manifestă

Scanned with OKEN Scanner

la majoritatea oamenilor, aproximativ 10% din populație reacționează la un asemenea contact printr-un răspuns imunologic. Se presupune că în aceste cazuri țesutul limfatic din mucoase poate produce un tip anormal de globuline, cunoscut sub numele de *reagină*. Aceste globuline sînt, în parte, eliberate în circulație, în parte fixate de celulele din țesuturi. Contactul ulterior cu antigenul sensibilizant produce o reacție antigen-anticorp, cu descărcare de histamină.

Antigenele sensibilizante care produc alergii spontane imediate pot fi de origine vegetală sau animală, așa cum am văzut mai sus. Dintre manifestările clinice întîlnite la om mai des menționăm pe cele respiratorii, cutanate, nervoase și gastrointestinale. Febra de fîn, astmul bronșic, rinitele și sinuzitele neinfecțioase, precum și catarurile recidivante (secreții seroase ale mucoasei nazale) reprezintă manifestările respiratorii cele mai frecvente. La nivelul pielii, alergia spontană imediată se manifestă prin urticarie sau edem angioneurotic (acumulare în exces de lichide și electroliți în piele, în țesuturi dermic și hipodermic). Unele migrene, grețuri, vărsături și diaree pot fi provocate, de asemenea, de reacția antigen-anticorp.

Alergia întîrziată este mediată de celulele imunologice alterate în absența unui anticorp demonstrabil. În general se admite că reacțiile alergice întîrziate își datorează specificitatea unor celule purtătoare de receptori pentru antigeni, dat fiind că pînă astăzi nu s-au adus dovezi convingătoare în legătură cu intervenția, în aceste fenomene, a unor factori umorali specifici. Alergia întîrziată poate fi de origine infecțioasă sau neinfecțioasă. Un exemplu tipic de alergie întîrziată de natură infecțioasă este răspunsul organismului animal la tuberculină, ce se observă la organismul animal sau uman infectat cu bacilul Koch. S-a constatat că după 6—8 săptămîni de la infecția tuberculoasă macrofagele (celule fagocitare provenite din sistemul reticuloendotelial) dobîndesc în mod brusc proprietatea de a distruge 99% din numărul de bacili tuberculoși pe care pînă atunci citoplasma acestor celule îi tolera. Aceeași proprietate a macrofagelor apare și după imunizarea cu bacili vii atenuați (BCG), sau în unele împrejurări după inocularea unui număr mare de bacili omorîți. Această imunitate celulară este strîns legată la toate speciile-gazdă de apariția unei alergii întîrziate față de tuberculoproteina secretată de bacilul Koch. Astăzi se știe că 90% dintre adulții din colectivitățile urbane prezintă semne de alergie tuberculinică. Dintre celelalte boli infecțioase bacteriene, alergia întîrziată

Scanned with OKEN Scanner

mai apare în sifilis, bruceloză, tuse convulsivă, blenoragie etc. Acest tip de alergie mai poate să apară în infecții cu virusuri și ciuperci.

În cateoria alergiilor întîrziate de origine neinfecțioasă intră cele provocate de substanțele de origine vegetală. Penicilina, aspirina, iodul, procaina, sulfamidele pot deveni antigenice prin cuplarea lor cu proteinele organismului, provocînd reacții alergice întîrziate manifestate prin reacții cutanate, vasculare, articulare și febrile. Dintre proteinele străine organismului menționăm serurile imune, care pot provoca o stare întîrziată de alergie caracterizată prin urticarie, dureri articulare și febră, care apar după 6—10 zile de la injectarea serului.

Noțiunea de *autoagresiune* este strîns legată de cea de autoanticorpi. S-a arătat că un organism poate fi sensibilizat chiar prin produse proprii, care devin antigenice prin descompunerea lor și, mai departe, prin schimbarea proprietății și compoziției lor chimice. Este vorba de substanțe străine, numite endoalergene sau autoalergene, provenite din interiorul organismului. Autosensibilizarea s-a dovedit a fi un fenomen posibil. Într-adevăr, sînt cunoscute astăzi cazurile de autoalergie sau autoagresiune survenite după arsuri, degerături, iradieri, infecții virotice sau microbiene. În toate aceste cazuri substanțele proteice care rezultă din dezintegrarea celulelor organismului, transformate în antigene, determină formarea de anticorpi care, fixîndu-se pe un țesut oarecare, îl sensibilizează. Mai departe, eliberarea de noi proteine antigenice endogene face ca unirea dintre endoalergenul proteic și anticorpul produs să declanșeze, la nivelul celulelor, țesuturilor și organelor, reacția antigen-anticorp însoțită de manifestări alergice. Un exemplu tipic de autoalergie este autoalergia în infecțiile de focar, ca amigdalitele cronice, abcesele dentare etc. Concepția despre autoagresiune s-a lărgit mult în ultima vreme. Astfel, s-a dovedit recent că procesul de autoantigenitate se poate realiza și pe alte căi : sub acțiunea unor agenți nocivi – cel mai adesea virusuri sau microbi — unele celule din organism devin antigenice, declanșînd totodată elaborarea de autoanticorpi caracterizați prin specificitate față de țesuturile sau organele în care se găsesc celulele devenite antiorganice. Sînt autoanticorpi anticelulari, antitisulari sau antiorganici care, fixîndu-se pe celulele care le-au dat naștere și unindu-se cu ele în calitatea lor de antigene, le lizează, le distrug. Autoanticorpii specifici de organ manifestă acțiune agresivă numai asupra organului care le-a determinat producerea. Acest proces are, în aparență, un caracter de

Scanned with OKEN Scanner

autoimunizare, dar cu efecte distructive în locul celor de apărare. Mai mult, chiar dacă procesul infecțios declanșator s-a stins și cel ce elaborează anticorpi continuă, se instalează astfel o stare neîntreruptă de autoagresiune, care se autoîntreține și nu se poate stinge spontan. Așadar, organismul suferă de pe urma propriilor lui reacții imunologice devenind vătămătoare prin aceea că se îndreaptă împotriva propriilor celule devenite antigene și pentru că lanțul imunologic stabilit rămîne mereu activ. Deși este greu de admis această comportare a organismului, realitatea bolilor de autoagresiune este astăzi dovedită mai ales în domeniul hematologiei. Concepția autoagresiunii lărgește cadrul bolilor produse prin mecanism imunologic, adică prin conflict antigen-anticorp.

Scanned with OKEN Scanner

5

Proteinele și contracția musculară

Mișcarea, deplasarea în spațiu a organismelor vii, este nemijlocit legată de funcția contractilă a țesutului muscular. Această funcție este, la rîndul ei, determinată, pe de o parte, de existența proteinelor contractile în țesutul muscular, mult diferențiate și specializate, iar pe de altă parte, de mecanismele biologice de transformare a energiei chimice în energie mecanică. Dar nu numai deplasarea în spațiu a organismelor vii subliniază importanța proteinelor contractile, ci și funcțiile motorii ale unor organe și sisteme, funcții direct dependente de existența acestor proteine în țesutul musculaturii netede și a mușchiului cardiac. Așa, de pildă, progresiunea substanțelor alimentare introduse în tubul digestiv depinde de funcția contractilă a musculaturii netede din peretele acestuia, de așa-numitele mișcări peristaltice; circulația sîngelui în sistemul vascular este determinată în primul rînd de forța pe care o dezvoltă inima în timpul contracției mușchiului cardiac; expulzarea fătului în timpul nașterii ar fi imposibilă fără contracția puternică a musculaturii netede din peretele uterului.

În dorința de a face pe cititor să rețină importanța fundamentală a proteinelor contractile pentru activitatea musculară pentru viață, vom prezenta principalele cunoștințe moderne referitoare la structura și ultrastructura celulei musculare, precum și la fenomenele chimice și mecanice ale contracției musculare.

Scanned with OKEN Scanner

Structura și ultrastructura fibrei musculare

Din punct de vedere anatomic și histologic, țesutul muscular a fost subîmpărțit în trei mari categorii, în raport cu unele particularități cu caracter morfolgic și funcțional : *țesutul muscular striat* sau voluntar, prezent în musculatura scheletică ; *țesutul muscular neted* sau involuntar, prezent în musculatura unor organe interne, ca tubul digestiv, arborele traheobronșic, uter, vezica urinară, căi biliare etc ; *mușchiul cardiac*. Pentru prezentarea structurii și ultrastructurii fibrei musculare ne vom servi de modelul unei fibre musculare striate, mai bine studiată în ultima vreme.

Se știe că mușchiul striat se compune din celule musculare foarte alungite, denumite fibre musculare, care au o lungime de 1 mm—4 cm și o grosime de 10—100μ, dispuse paralel în fascicule. Fiecare dintre aceste fibre poate fi considerată ca cea mai mică unitate funcțională contractilă. Componentele principale ale acestora sînt cele ale celulelor în general, și anume : membrana, protoplasma (citoplasma) și nucleul.

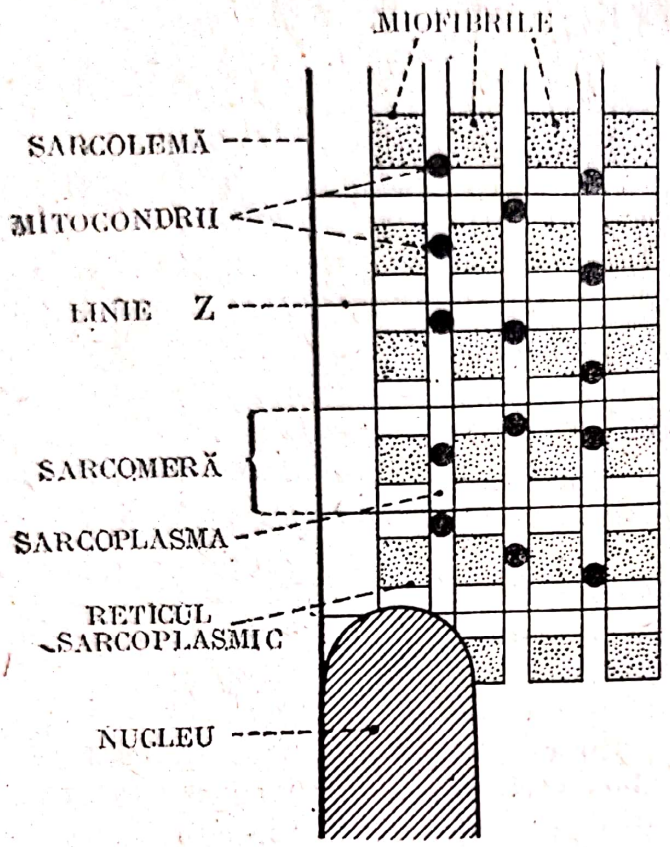
În fig. 52 sînt schematizate, după PERRY (1956), componentele principale ale unei fibre musculare striate : sarcolema, sarcoplasma, sarcozomii, miofibrilele, reticulul sarcoplasmic și nucleul.

Sarcolema nu reprezintă altceva decît membrana celulei musculare. Morfologia acesteia a putut fi cunoscută numai după apariția microscopului electronic. Studii aprofundate privind morfologia sarcolemei au arătat că aceasta se compune din două porțiuni relativ bine distincte : sarcolema propriu-zisă și membrana bazală. *Sarcolema propriu-zisă* — adevărata mebrană celulară, a cărei grosime este de circa 70 Å, posedă toate caracterele generale ale membranelor celulare. Din punct de vedere biochimic, ea este formată din substanțe lipoproteice (grăsimi și proteine). Rolul fiziologic fundamental al sarcolemei propriu-zise este acela de a propaga excitația prin intermediul unor schimburi de ioni.

Membrana bazală, în grosime de 300—500 Å, este constituită îndeosebi din substanțe proteice colagenice. Rolul principal al acestei formațiuni este de a menține, în limite normale, forma fibrei musculare, fapt demonstrat prin observațiile asupra mușchilor aflați în curs de regenerare.

În repausul fiziologic sarcolema este, din punct de vedere electric, polarizată, adică la exteriorul acesteia predomină sarcini electrice pozitive, iar în interiorul ei cele negative. Această polarizare se datorește unei repartiții inegale a ionilor pozitivi și negativi de

Scanned with OKEN Scanner



52. Componentele fibrei musculare striate (după Perry)

o parte și de alta a sarcolemei, repartiție determinată de permeabilitatea selectivă a acesteia. În interiorul fibrei musculare predomină ionii negativi, iar la exteriorul acesteia ionii pozitivi, fapt care explică tocmai această polarizare. Diferența de potențial electric între interiorul și exteriorul fibrei musculare, măsurată cu ajutorul unor microelectrozi, este de circa 90 m V. În timpul activității musculare, polaritatea sarcolemei se inversează progresiv de la un capăt la celălalt al fibrei musculare, în raport cu progresia excitației, fenomen cunoscut sub numele de depolarizare. Trecerea de la starea de activitate la starea de repaus este însoțită de revenirea polarității electrice la starea de polaritate inițială, fenomen cunoscut sub numele de repolarizare.

Sarcoplasma reprezintă citoplasma fibrei musculare, în sînul căreia se află două formațiuni specifice, bine individualizate și diferențiate; miofibrilele și reticulul sarcoplasmic. De asemenea, sarcoplasma conține formațiuni mitocondriene denumite sarcozomi. Sarcoplasma reprezintă una dintre componentele cele mai puțin cunoscute ale fibrei musculare; ea se găsește în cantități relativ

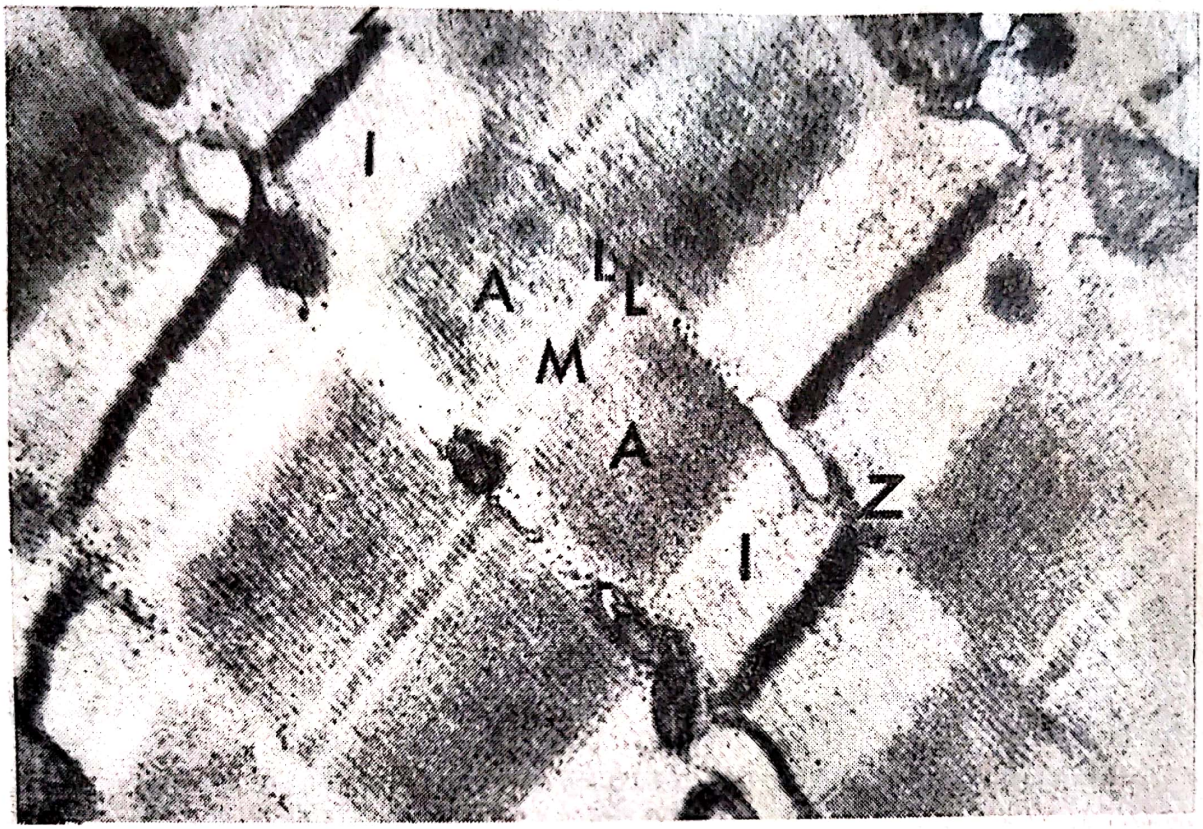
Scanned with OKEN Scanner

mici, fiind formată din așa-numitul miogen — un ansamblu de proteine hidrosolubile. În ultimul timp s-a putut demonstra prezența unui număr important de enzime la nivelul sarcoplasmei, enzime care intervin în metabolismul muscular, ca, de pildă, fosforilaza, fosfoglucomutaza, aldolaza, dehidrogenaza și altele.

Mitocondriile sau *sarcozomii* conțin o mare cantitate de *mioglobină*, pigment muscular cu rol de transportor și rezervor de oxigen. Ca și în mitocondriile altor tipuri de celule, în mitocondriile celulei musculare se află un mare număr de enzime care intervin în procesele de oxidare, de reducere și de fosforilare, procese ce asigură celulei musculare largi posibilități de producere și degajare de energie. Pe o secțiune transversală a unei fibre musculare mitocondriile apar sub formă de corpi ovalari sau circulari, așezați atît excentric, în apropierea membranei celulare, cît și în mijlocul filamentelor pe care le desparte astfel în fascicule. Pe o secțiune longitudinală, dimensiunile mitocondriilor variază în lungime de la 1—10μ, iar în lățime măsoară 0,5μ. Mitocondriile sînt sediul producției de energie provenită din oxidarea substanțelor nutritive care, după ce a fost înmagazinată în compuși fosfatici, va fi folosită în procesul de contracție musculară, cu alte cuvinte, va fi convertită în energie mecanică. Cu cît fibrele musculare sînt mai bogate în mitocondrii, cu atît posibilitățile lor de a transforma energia chimică în energie mecanică sînt mai mari.

Miofibrilele, componentele cele mai importante ale fibrei musculare, responsabile de proprietățile contractile ale mușchilor, ocupă cea mai mare parte din celula musculară. Structura miofibrilelor imprimă mușchilor scheletici și cardiac aspecte morfologice caracteristice, și anume prezența așa-numitelor striațiuni, de unde și denumirea de mușchi striați. Într-adevăr, dacă se examinează la microscopul optic o secțiune foarte fină dintr-un țesut muscular se poate constata cu ușurință alternanța de benzi închise, denumite benzi A (anizotrope), cu benzi deschise, denumite benzi I (izotrope). Benzile deschise sînt întrerupte de o linie densă, denumită linia Z, ce împarte fibrele musculare în segmente microscopice, pe care morfologii le-au numit *sarcomere* — unități structurale cuprinse între două linii Z. Din punct de vedere funcțional, acestea reprezintă adevăratele unități contractile ale fibrelor musculare. În mijlocul benzilor dense se găsește cîte o zonă mai puțin densă, denumită zona H (discul lui Hansen). Cercetările recente ale lui Huxley și Hanson, efectuate cu ajutorul microscopului electronic, au arătat

Scanned with OKEN Scanner



53. Secțiune prin mușchi văzută la microscopul electronic (mărită de 35 000 ori) (după Spiro)

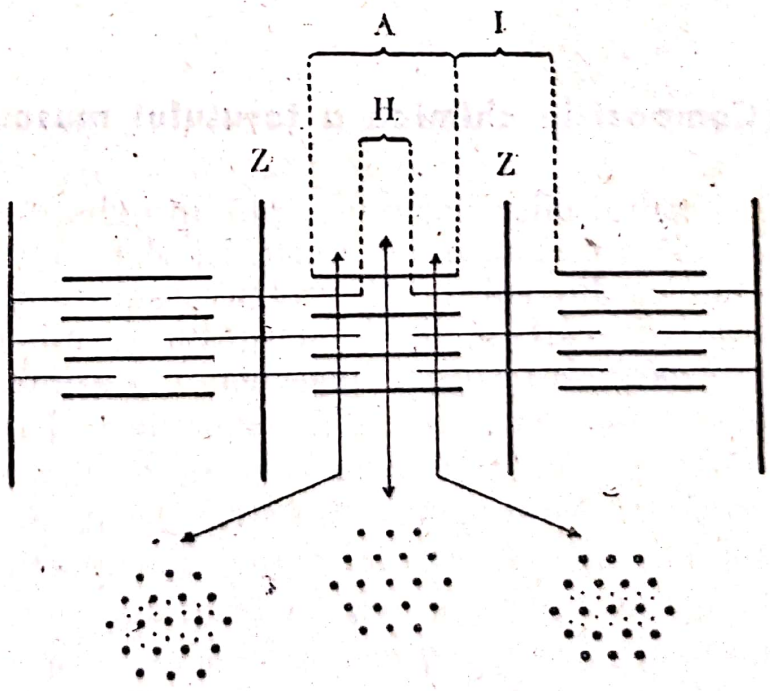
că miofibrilele sînt constituite, la rîndul lor, din două tipuri de filamente proteice; unele cu grosime de 100 Å, caracteristice benzilor A, și altele cu o grosime de 50 Å, prezente în benzile I, acestea din urmă pătrunzînd pînă în zonele H. Este interesant de remarcat faptul că aceste filamente proteice sînt dispuse paralel, respectînd o regularitate perfectă, ce poate fi pusă în evidență atît prin secțiunile longitudinale, cît și prin cele transversale (fig. 54).

Așa cum s-a arătat mai înainte, rolul esențial în contracția musculară revine proteinelor musculare, cu alte cuvinte, proteinelor care intră în constituția miofibrilelor. Într-adevăr, cercetările privitoare la structura chimică a miofibrilelor în ansamblu și, în ultimul timp, a benzilor opace (A) și a celor clare (I) au arătat că filamentele groase, caracteristice benzilor A, sînt formate dintr-o proteină denumită *miozină*, în timp ce filamentele subțiri, prezente în benzile I, sînt constituite din *actină*, iar după unii cercetători și din *tropomiozină* (o a treia proteină musculară izolată de către Bailey în 1948). Filamentele groase se mai numesc și filamente de

Scanned with OKEN Scanner

miozină, iar cele subțiri, filamente de actină. Suprafața acestor filamente nu este netedă, ci rugoasă, prezentînd mici neregularități separate prin distanțe egale, neregularități ce par să atingă filamentele de actină. Pe de altă parte, cercetările lui Hanson și Lowi (1963) au contribuit la precizarea ultrastructurii filamentelor de actină. În lumina acestor cercetări, filamentele de actină par a fi formate din cîte două firișoare dispuse în formă elicoidală, constituite, la rîndul lor, din formațiuni globuloase separate prin distanțe egale, de 56,5 Å. La nivelul acestor formațiuni globuloase se observă discrete striațiuni periodice, la intervale regulate, datorită zonelor de joncțiune dintre tropomiozină și actină. Cele două proteine contractile care intră în constituția miofibrilelor, respectiv miozina și actina, diferă nu numai din punct de vedere morfologic, așa cum am arătat mai sus, ci și din punct de vedere funcțional. Într-adevăr, în timp ce miozina se comportă ca o enzimă în procesele biochimice și moleculare ale contracției musculare, actina este legată mai mult de fenomenele mecanice ale acestor procese.

Reticulul sarcoplasmic este format dintr-o rețea tubulară membranoasă situată în spațiul dintre miofibrile. Această rețea tubulară plexiformă submicroscopică este orientată longitudinal, la nivelul benzilor A, și lateral, la nivelul benzilor H, înfășurînd strîns miofibrilele. Tubii reticulului sarcoplasmic se unesc între ei la nivelul liniilor Z, formînd canalele transversale, denumite *cis-*



54. Cele două tipuri de filamente proteice dintr-o miofibrilă :

sus — trei sarcomere văzute în secțiune longitudinală; jos—secțiuni transversale prin banda A la nivelul benzii H (centru) și în afara benzii H (lateral) (după Huxley și Hanson)

Scanned with OKEN Scanner

terne terminale. Între aceste cisterne și membrana Z se află un șir de mici vezicule. Ansamblul format de un șir de vezicule și două cisterne terminale a fost denumit *triada reticulară*, a cărei structură este asemănătoare cu cea a membranei sarcolemice. Asemănarea dintre structura reticulului sarcoplasmic și cea a sarcolemei a determinat pe cercetători să emită ipoteza după care reticulul sarcoplasmic ar avea un rol fundamental în conducerea excitației în interiorul fibrei musculare pînă la miofibrilele cele mai profunde. Această ipoteză este în mare parte confirmată de experiențele lui Huxley și Taylor care, aplicînd un microelectrod pe diferitele zone ale sarcolemei, au constat că dacă vîrful microelectrodului se află la nivelul benzilor deschise (benzi I), în apropierea membranei Z și a triadei reticulare, se obține contracția sarcomerului respectiv. Dacă microelectrodul este plasat la nivelul benzilor A, nu se obține nici un răspuns contractil, ceea ce arată, o dată în plus, relația strînsă dintre poziția triadei reticulare în sarcomer, sensibilitatea la stimulare a miofibrilei și contracția musculară. O altă dovadă care arată intervenția reticulului sarcoplasmic în procesul de legare a excitației de contracție constă în aceea că această formațiune histologică, studiată comparativ la diferite specii de animale, este cu atît mai dezvoltată cu cît mușchii efectuează contracții mai frecvente și mai rapide. Cercetările efectuate de Ebrashi (1958) au permis să se atribuie reticulului sarcoplasmic un rol nu numai în transmiterea excitației, ci și în relaxarea fibrei musculare contractate.

Compoziția chimică a țesutului muscular

Țesutul muscular reprezintă aproximativ 40% din greutatea corporală a organismului uman. El se compune, din punct de vedere chimic, din substanțe proteice, substanțe azotate neproteice, hidrați de carbon, lipide și substanțe minerale.

Proteinele țesutului muscular reprezintă componenta principală a acestuia, nu numai din punct de vedere cantitativ, ci mai ales din punct de vedere funcțional, deoarece majoritatea proceselor biochimice și mecanice sînt strîns legate de structura și funcția acestor proteine. În stadiul actual al cunoștințelor noastre, deși problema structurii proteice a țesutului muscular comportă suficient de multe necunoscute, putem deosebi următoarele categorii de pro-

Scanned with OKEN Scanner

teine musculare; proteinele sarcoplasmei, proteinele granulare, proteinele miofibrilelor și proteinele țesutului conjunctiv, care ocupă spațiile dintre miofibrile (așa-numita stromă).

Proteinele sarcoplasmei reprezintă un complex de proteine în care intră : *mioglobinele, miogenele* și diferitele *enzimproteine. Mioglobina* este o proteină cu proprietăți asemănătoare cu cele ale hemoglobinei din sînge. Ea fixează în mod reversibil oxigenul molecular, formînd oximioglobina, compus ce reprezintă o rezervă locală de oxigen. *Miogenul,* amestec de proteine solubile în soluții saline, reprezintă aproximativ 28% din proteinele totale ale țesutului muscular. Cu ajutorul metodei electroforetice au putut fi izolate diferite fracțiuni cu proprietăți enzimatice, adică enzimproteine, care intervin în procesele biochimice ale contracției musculare. Cea mai mare parte a proteinelor care intră în constituția miogenului o formează enzimele.

Proteinele granulare se găsesc în structurile celulare, și anume în mitocondrii (sarcomi) și nuclei. Ele au un rol fundamental în catalizarea reacțiilor de degradare oxidativă a substanțelor energetice și în reacțiile fosforilării oxidative, fiind deci în marea lor majoritate protein-enzime care prin reacțiile ce le catalizează procură țesutului muscular acidul adenozintrifosforic indispensabil contracției musculare.

Proteinele miofibrilelor au o structură fibrilară, participînd la organizarea filamentoasă a mușchiului. Ele sînt deosebit de importante pentru contracția musculară. Cele mai reprezentative proteine din acest grup sînt : miozina, actina și tropomiozina. *Miozina* reprezintă aproximativ 40—60% din proteinele țesutului muscular, constituind atît din punct de vedere cantitativ, cît și funcțional, sistemul proteic cel mai important al țesutului muscular. Ea are o structură fibrilară, o greutate moleculară de 423 000, în formă de monomer, și de 850 000, în formă de dimer. Conține în structura ei un număr mare de aminoacizi dicarboxilici și diaminoacizi, ceea ce îi conferă un caracter accentuat polar și în consecință o mare reactivitate față de diferiți ioni. Miozina are proprietatea de a se combina reversibil cu o altă proteină fibrilară din mușchi și anume cu *actina,* formînd complexul denumit *actomiozină.* Miozina manifestă intense proprietăți catalitice, favorizînd desfacerea legăturii fosfat terminală de înalt potențial energetic din molecula ATP. Cu alte cuvinte, între miozină, proteina contractilă din țesutul muscular, și adenozintrifosfatază, enzimă care catalizează desfacerea moleculei de acid adenozintrifosforic există o identitate.

Scanned with OKEN Scanner

Prin proprietatea ei enzimatică, miozina intervine în reglarea cuantumului de energie necesar în procesul contracției. Proprietățile enzimatice ale miozinei sînt activate de ioni de calciu și de magneziu.

Actina reprezintă cam 15% din totalul miofibrilelor musculare. Ea se găsește sub două forme, care pot trece una într-alta, și anume : o formă globulară, denumită *G-actina*, și o formă fibrilară, denumită *F-actina*. Trecerea G-actinei în F-actină se face printr-un proces de polimerizare, proces care determină o schimbare a proprietăților fizice ale G-actinei, în sensul creșterii viscozității în soluție și al apariției dublei refracții de scurgere. Transformarea G-actinei în F-actină și invers ar constitui un factor important în fenomenul contracției musculare. Așa cum am arătat mai sus, actina se unește cu miozina formînd complexul actomiozină, considerată astăzi ca fiind adevărata proteină contractilă din miofibrilă. Ca și miozina, actomiozina posedă proprietăți enzimatice, favorizînd hidroliza acidului adenozintrifosforic, și deci eliberarea de energie.

Tropomiozina reprezintă aproximativ 2,5% din proteinele care intră în structura miofibrilelor. Pînă în prezent, deși a fost izolată sub formă cristalizată, nu s-a putut determina cu precizie rolul ei în procesul de contracție musculară.

În ceea ce privește structura în aminoacizi a proteinelor musculare, aceasta diferă de la o proteină la alta.

Substanțele azotate neproteice sînt foarte numeroase și de aceea ne vom mărgini să le amintim doar pe cele mai importante, și anume : creatina, creatinina, acizii adenilici și acetilcolina.

Creatina sau acidul metilguanidilacetic se găsește atît în mușchiul striat, cît și în mușchiul cardiac, în cea mai mare parte (80%) sub forma unui compus cu fosfor, denumit fosfocreatină sau fosfogen. Legătura chimică dintre acidul fosforic și creatină este puternic energetică, asemănătoare cu legăturile chimice din molecula acidului adenozintrifosforic și a acidului adenozindifosforic. Acest compus fosfatic are un rol deosebit de important în procesele biochimice ale contracției musculare, deoarece servește ca donator și acceptor de grupare fosfat. Importanța deosebită a creatinei pentru țesutul muscular rezultă și din faptul că cea mai mare parte din această substanță se găsește în mușchi. Așa, de pildă, organismul uman adult conține aproximativ 120 mg creatină, din care 98% în țesutul muscular, 1,5% în țesutul nervos și numai 0,5% în celelalte țesuturi.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

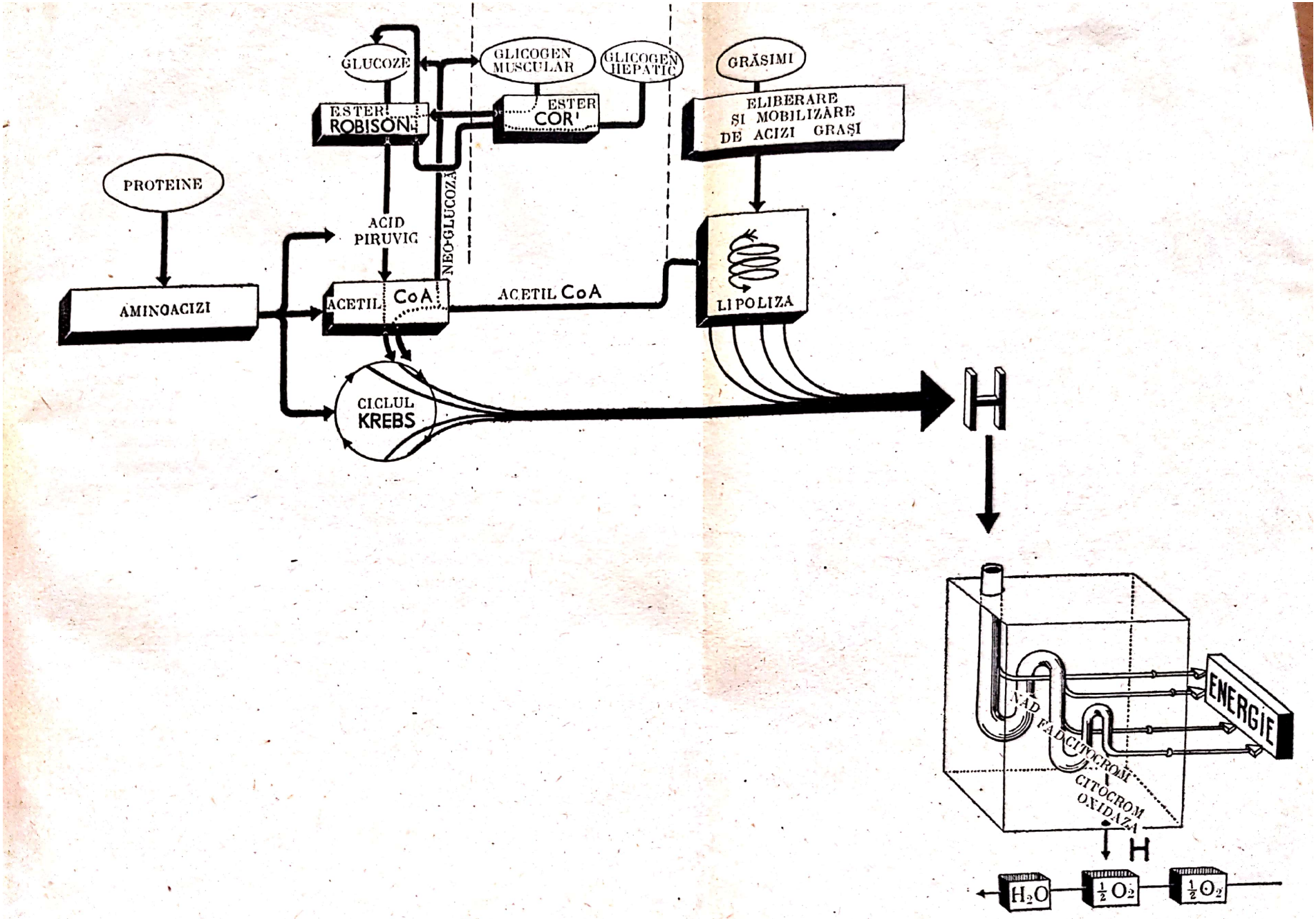


Fig. 55 — Schema producerii de energie în țesutul muscular (după Labadie).

Creatinina, derivat al creatinei, adică anhidrida acesteia, se găsește în cantitate mult mai mică în țesutul muscular, ea constituind, de fapt un produs de eliminare și excreție a creatinei în urină. În medicina umană, excreția urinară de creatinină este folosită ca indicator prețios al metabolismului țesutului muscular. Așa, de exemplu, în boala numită distrofie musculară procesul de transformare al creatinei în creatinină este intens tulburat, fapt care se reflectă în creșterea eliminării de creatină și scădere eliminării de creatinină în urină.

Acizii adenilici, și anume adenozinmonofosforic, adenozindifosforic și adenozintrifosforic, reprezintă cele mai importante componente azotate neproteice din țesutul muscular, deoarece intervin în mod direct în procesul contracției musculare. Acești acizi înmagazinează energia eliberată prin descompunerea substanțelor nutritive (hidrați de carbon, grăsimi), eliberînd-o mai departe pentru a fi transformată în energie mecanică de către proteinele contractile.

Acetilcolina reprezintă un compus de importanță fundamentală pentru contracția musculară. Ea constituie un transmițător umoral al comenzii nervoase pe care o recepționează mușchiul la nivelul plăcilor neuromusculare, cu alte cuvinte, la nivelul joncțiunii dintre nerv și mușchi. Toate sistemele conductoare ale tuturor speciilor animale conțin acetilcolină, care se formează chiar la locul excitat. Astfel, la *Electrophorus electricus* concentrația aceticolinei în organul electric este direct proporțională cu voltajul care ia naștere în acest organ. De altfel, organul electric al acestui pește este cel mai puternic generator bioelectric cunoscut în natură. Menționăm, în treacăt, că otrava numită curara, folosită de triburile primitive la vînat, iar astăzi în terapeutică, acționează tocmai la nivelul reacțiilor care compun și descompun aceticolina (blochează enzima numită colinesterază).

Hidrații de carbon se găsesc în țesutul muscular în special sub forma de glicogen care, după cum se știe, este un polimer al glucozei. În afară de glicogen, care se găsește în concentrație de 1g %, mușchiul mai conține și alte glucide, ca de pildă glucoza și derivații metabolici ai acesteia (glucozo-6-fosfat, fructozo-6-fosfat, triozofosfat, acidul lactic, acidul piruvic etc.). În ceea ce privește grăsimile musculare, ele se găsesc în cantități de 0,5—1,5 g % sub formă de grăsimi neutre, colesterol și fosfolipide (grăsimi fosforate).

Scanned with OKEN Scanner

Fenomenele chimice ale contracției musculare

Fenomenele de contracție și relaxare musculară comportă, ca orice fenomen vital, un ansamblu de reacții biochimice cu caracter complex, începînd de la eliberarea energiei chimice din substanțele alimentare energetice și pînă la transformarea acesteia în energie mecanică. Dacă ne referim la organismul omului, de exemplu, activitatea fizică a acestuia este legată nemijlocit de fenomenele biochimice și moleculare care se petrec în țesutul muscular. Performanțele sportive, care cer eforturi deosebite din partea țesutului muscular, sînt legate nu numai de creșterea în volum și greutate ale acestui țesut, ci și de adaptabilitatea deosebită a reacțiilor biochimice și moleculare care transformă energia chimică în energie mecanică. De aceea, o scurtă trecere în revistă a principalelor reacții chimice și fenomene mecanice care stau la baza contracției musculare nu este lipsită de interes. Pentru ca fenomenul contracției musculare să poată avea loc sînt necesare în principal : o sursă de energie; prezența oxigenului atmosferic; prezența unor substanțe care să înmagazineze energia chimică eliberată prin degradarea substanțelor energetice; enzime catalizatoare; prezența proteinei contractile; prezența apei și a anumitor substanțe minerale (ioni de K^+, $+ Na^+$, $+ Ca^+$).

Sursele de energie folosite de către țesutul muscular în procesul contracției sînt glicogenul, acizii grași, proveniți din grăsimile alimentare și de rezervă, precum și aminoacizii (într-o proporție foarte mică) rezultați din descompunerea proteinelor alimentare. Aceste substanțe energetice sînt supuse unor reacții de descompunere chimică, însoțită de degajare de energie, care, așa cum vom vedea mai departe, este concentrată în alți compuși chimici înainte de a fi folosită de către fibra musculară și transformată în energie mecanică. Degradarea acestor substanțe energetice și eliberarea concomitentă de energie are loc în fibra musculară și, în special, în formațiunile mitocondriene din interiorul acesteia.

Glicogenul procură energia mușchiului în cursul reacțiilor de degradare anaerobă, cît și în cursul reacțiilor de degradare aerobă, adică prin intermediul ciclului acizilor tricarboxilici, în care oxigenul molecular introdus prin respirație participă la reacțiile biochimice din acest ciclu. Această energie nu este folosită direct de către mușchi, ci depozitată în legăturile fosfatice, puternic energetice, ale moleculei de ATP. Astfel, în cursul reacțiilor de degradare anaerobă

Scanned with OKEN Scanner

a glicogenului, o moleculă-gram de glucoză eliberează circa 56 000 de calorii, energie acumulată în patru molecule de ATP, din care cel puțin două pot fi folosite ca rezervă energetică. Energia eliberată în cursul degradării aerobe a glucozei este însă de circa douăsprezece ori mai mare, întrucît o moleculă-gram de glucoză pune în libertate 686 000 de calorii, procurînd în același timp un număr de 38 de molecule de ATP. Din cele de mai sus rezultă că reacțiile care se produc în lipsa oxigenului atmosferic, deși neeconomicoase, au o mare importanță biologică, întrucît permit mușchilor să se contracte, un anumit timp, în condiții de foame de oxigen, adică în lipsa oxigenului atmosferic. Așa, de pildă, un sportiv care aleargă la 100 m plat nu ar putea să realizeze performanțe, dacă nu ar exista aceste largi posibilități metabolice de adaptare ale mușchiului, în condițiile de aport scăzut de oxigen pe cale respiratorie și circulatorie, în raport cu gradul efortului muscular.

Lipidele nu reprezintă sursa principală și imediată de energie pentru activitatea țesutului muscular. Cu toate acestea, cînd aportul alimentar de glucoză este scăzut sau întrerupt (foame) și cînd rezervele de glicogen hepatic sau muscular sînt epuizate, organismul face apel la lipidele din depozite, pe care le transformă în glucoză. O altă cale de folosire a lipidelor este hidroliza acestora, mobilizarea acizilor grași eliberați (sub efectul scăderii glucozei în sînge și a intervenției hormonilor hipofizari și medulosuprarenali), pătrunderea lor în mitocondrii, unde prin mecanismul β-oxidării sînt transformați în fragmente de acetat activ sau de acetil-CoA. Aceste fragmente pătrund în ciclul lui Krebs, fiind degradate pînă la bioxid de carbon și apă, cu eliberare de energie. Astfel o singură moleculă de acid palmitic poate da naștere la 130 molecule de ATP. Mușchiul mai folosește ca sursă energetică și corpii cetonici (acidul acetilacetic și β hidroxibutiric), proveniți tot din degradarea grăsimilor.

În ceea ce privește *proteinele* acestea reprezintă o sursă neînsemnată de energie pentru contracția musculară. Acizii aminați proveniți din hidroliza proteinelor alimentare sau tisulare sînt degradați în ciclul lui Krebs, punînd în libertate energie.

Apa și sărurile minerale, ca cele de potasiu, sodiu, calciu, magneziu etc. sînt tot atît de indispensabile contracției musculare ca și sursele energetice despre care s-a vorbit mai sus. Întreruperea aportului de apă și de săruri, ca și tulburările hidroelectrolitice grave, scade randamentul contracției musculare ducînd chiar la paralizii.

Scanned with OKEN Scanner

Oxigenul atmosferic este absolut indispensabil pentru contracția musculară, întrucît cea mai mare cantitate de energie furnizată mușchiului de către substanțele energetice se face prin oxidarea acestora la nivelul ciclului Krebs, în prezența oxigenului. Acesta este captat din atmosferă la nivelul plămînilor de către hemoglobină, transportat de sînge (globulele roșii încărcate cu oxihemoglobină) și transferat fibrelor musculare prin intermediul capilarelor care irigă țesutul muscular. Fără a insista asupra reacțiilor și a etapelor de transport ale oxigenului molecular, amintim numai că mioglobina înmagazinează o mare parte din oxigenul adus de sînge în mușchi, eliberîndu-l mai tîrziu în raport cu necesitățile oxidative ale activității musculare. Oxigenul folosește la oxidarea completă a substanțelor energetice, pînă la bioxid de carbon și apă, și deci la eliberarea energiei chimice conținută în substanțele energetice folosite de către mușchi în procesul contracției musculare.

Acidul adenozintrifosforic și *fosfocreatina* sînt principalele substanțe care concentrează în molecula lor, în mod temporar, energia eliberată în cursul oxidării substanțelor energetice. Această energie este înmagazinată la nivelul legăturilor fosfatice din moleculele de ATP și fosfocreatină, deci tot sub formă chimică. ATP se sintetizează din acidul adenozindifosforic, la care se adaugă o moleculă de acid fosforic, concomitent cu formarea unei legături macroergice. Rolul ATP în contracția musculară a fost întrevăzut cu mult timp în urmă. Astfel, experiențele lui Lundsgaard, efectuate în 1933, au arătat că în cursul activității musculare substanțele fosforilate dispar din mușchi, proporțional cu intensitatea efortului muscular, ceea ce atestă rolul acestor substanțe ca sursă energetică imediată pentru contracția musculară. În 1941, Litmann a stabilit că rolul ATP în contracția musculară este strîns legat de legăturile fosfatice din molecula acestei substanțe. Cercetări moderne privind activitatea enzimatică din fibra musculară au arătat că 80% din ATP este descompus în ADP, datorită activității enzimatice a proteinelor care intră în structura miofibrilelor. Această activitate enzimatică este cantonată în special în benzile A din fibra musculară, fiind puternic influențată de ionii de calciu. Deși reacțiile biochimice care concură la descompunerea și resinteza ATP-ului nu sînt încă suficient de bine cunoscute, există totuși suficiente fapte care arată că sub influența unor enzime și în special sub influența activității enzimatice a miozinei ATP se descompune în ADP, pierzînd o moleculă de acid fosforic și eliberînd, în același timp, o mare cantitate de energie conținută în legătura fosfatică. Procesul con-

Scanned with OKEN Scanner

tracției musculare reclamă însă o resinteză permanentă a ATP-ului, care se realizează prin intermediul unui alt izvor de energie, și anume al fosfagenului sau fosforilcreatinei (PC), după reacția Lohman:

$$ADP + PC \rightleftarrows ATP + \text{creatină} + 3\,000 \text{ cal.}$$

Unii cercetători atribuie ATP-ului și alte roluri decît acela de a fi furnizor imediat de energie pentru contracția musculară. Astfel, se consideră că ATP-ul ar avea un rol „plastifiant" la nivelul miofibrilelor. Într-adevăr, este binecunoscut faptul că în eprubetă actina și miozina se combină spontan, dînd naștere complexului numit actomiozină, cu proprietăți fizice diferite. În organismul viu, așa cum au arătat Huxley și Hanson, acest complex proteic nu se formează, filamentele de actină și cele de miozină rămînînd distincte una de cealaltă. Totodată, s-a demonstrat că prezența ATP-ului în concentrație ionică ridicată poate împiedica combinarea actinei cu miozina. În felul acesta, în stare de repaus, o concentrație optimă de ATP ar putea contribui la menținerea suplețe și plasticității fibrei musculare.

Fosfocreatina reprezintă o rezervă de legături fosfatice de înalt nivel energetic. Mușchiul conține de 4—6 ori mai multe molecule gram de fosfocreatină decît de ATP. Rolul esențial al fosfocreatinei este acela de a regenera ATP, după reacția chimică de mai sus, în prima fază a contracției musculare, cînd nu există încă alt donator de legături fosfatice puternic energetice. Această substanță, ca și ATP-ul, se regenerează în permanență tot cu ajutorul ATP-ului și tot conform reacției Lohman, care este reversibilă, datorită enzimei numită ATP—creatinfosfotransferază. Mușchiul resintetizează permanent fosfocreatina din moleculele de ATP care au rămas nefolosite în procesul contracției musculare și care, la rîndul lor, s-au format în timpul oxidării glucozei și a acizilor grași în ciclul acizilor tricarboxilici. În felul acesta, între substanța energetică de bază, și anume glicogen, ATP și fosfocreatina există o strînsă relație: glicogenul, prin oxidarea sa pînă la bioxid de carbon și apă, contribuie la formarea moleculelor de ATP, iar fosfocreatina se formează din ATP, contribuind în același timp la formarea acestuia.

Scanned with OKEN Scanner

tracției musculare reclamă însă o resinteză permanentă a ATP-ului, care se realizează prin intermediul unui alt izvor de energie, și anume al fosfagenului sau fosforilcreatinei (PC), după reacția Lohman:

$$ADP + PC \rightleftarrows ATP + \text{creatină} + 3\,000 \text{ cal.}$$

Unii cercetători atribuie ATP-ului și alte roluri decît acela de a fi furnizor imediat de energie pentru contracția musculară. Astfel, se consideră că ATP-ul ar avea un rol „plastifiant" la nivelul miofibrilelor. Într-adevăr, este binecunoscut faptul că în eprubetă actina și miozina se combină spontan, dînd naștere complexului numit actomiozină, cu proprietăți fizice diferite. În organismul viu, așa cum au arătat Huxley și Hanson, acest complex proteic nu se formează, filamentele de actină și cele de miozină rămînînd distincte una de cealaltă. Totodată, s-a demonstrat că prezența ATP-ului în concentrație ionică ridicată poate împiedica combinarea actinei cu miozina. În felul acesta, în stare de repaus, o concentrație optimă de ATP ar putea contribui la menținerea supleței și plasticității fibrei musculare.

Fosfocreatina reprezintă o rezervă de legături fosfatice de înalt nivel energetic. Mușchiul conține de 4—6 ori mai multe molecule gram de fosfocreatină decît de ATP. Rolul esențial al fosfocreatinei este acela de a regenera ATP, după reacția chimică de mai sus, în prima fază a contracției musculare, cînd nu există încă alt donator de legături fosfatice puternic energetice. Această substanță, ca și ATP-ul, se regenerează în permanență tot cu ajutorul ATP-ului și tot conform reacției Lohman, care este reversibilă, datorită enzimei numită ATP—creatinfosfotransferază. Mușchiul resintetizează permanent fosfocreatina din moleculele de ATP care au rămas nefolosite în procesul contracției musculare și care, la rîndul lor, s-au format în timpul oxidării glucozei și a acizilor grași în ciclul acizilor tricarboxilici. În felul acesta, între substanța energetică de bază, și anume glicogen, ATP și fosfocreatina există o strînsă relație: glicogenul, prin oxidarea sa pînă la bioxid de carbon și apă, contribuie la formarea moleculelor de ATP, iar fosfocreatina se formează din ATP, contribuind în același timp la formarea acestuia.

Scanned with OKEN Scanner

Fenomenele chimice ale contracției musculare pot fi rezumate astfel : se admite că sursa energetică imediată și direct accesibilă pentru efectuarea contracției musculare este acidul adenozintrifosforic, componenta principală care depozitează în legăturile sale macroergice energia eliberată în cursul descompunerii aerobe și anaerobe a glicogenului. Prin desfacerea „explozivă" a legăturii fosfatice din molecula sa, ATP-ul furnizează cantitatea de energie care este folosită de către țesutul muscular și transformată în lucru mecanic.

Deși fosfocreatina conține și ea o legătură fosfatică puternic energetică, care eliberează o cantitate de energie mai mare chiar decît ATP, această substanță nu poate fi folosită direct de către mușchi ca sursă de energie pentru contracția musculară, deoarece desfacerea legăturii fosfatice necesită ca acceptor specific al grupării fosfat tocmai moleculele de ADP, care se formează numai după o prealabilă scindare a ATP. Totodată, proteina musculară contractilă manifestă activitate catalitică numai pentru ATP, ca neavînd nici un fel de acțiune de scindare a legăturilor macroergice din molecula de fosfocreatină. În acest mod fosfocreatina apare ca un rezervor energetic accesoriu utilizabil de către mușchi numai prin intermediul ATP-ului. Astfel, în faza inițială, de inducție, cînd mușchiul a primit impulsul nervos, gruparea fosfat terminală se detașează din molecula de ATP sub acțiunea catalitică a actomiozinei, cu formare de ADP și acid fosforic, eliberîndu-se în același timp o cantitate de 8 000 de calorii pentru o moleculă de ATP. Mai departe, ATP se regenerează din ADP și fosfocreatină, după reacția Lohman. Desfacerea grupării fosfat din molecula de fosfocreatină este însoțită de eliberarea a 11 000 calorii/mol. În sfîrșit, fosfocreatina epuizată se regenerează pe seama ATP-ului care, la rîndul său, se reface pe seama degradării aerobe și anaerobe a glicogenului.

Din cele de mai sus rezultă că deși glicogenul reprezintă sursa energetică primară a țesutului muscular prin rolul său în contracția musculară, ATP constituie sursa energetică direct accesibilă acestui țesut, iar fosfocreatina, o rezervă temporară de legături fosfatice puternic energetice. În efortul muscular susținut poate să aibă loc nu numai epuizarea ATP-ului și a fosfocreatinei, dar chiar și a glicogenului. În acest caz însă, glicogenul se resintetizează din acid lactic sau din acid piruvic prin reacțiile reversibile din ciclul acizilor tricarboxilici.

Scanned with OKEN Scanner

Fenomenele chimice ale contracției musculare pot fi rezumate astfel : se admite că sursa energetică imediată și direct accesibilă pentru efectuarea contracției musculare este acidul adenozintrifosforic, componenta principală care depozitează în legăturile sale macroergice energia eliberată în cursul descompunerii aerobe și anaerobe a glicogenului. Prin desfacerea „explozivă" a legăturii fosfatice din molecula sa, ATP-ul furnizează cantitatea de energie care este folosită de către țesutul muscular și transformată în lucru mecanic.

Deși fosfocreatina conține și ea o legătură fosfatică puternic energetică, care eliberează o cantitate de energie mai mare chiar decît ATP, această substanță nu poate fi folosită direct de către mușchi ca sursă de energie pentru contracția musculară, deoarece desfacerea legăturii fosfatice necesită ca acceptor specific al grupării fosfat tocmai moleculele de ADP, care se formează numai după o prealabilă scindare a ATP. Totodată, proteina musculară contractilă manifestă activitate catalitică numai pentru ATP, ca neavînd nici un fel de acțiune de scindare a legăturilor macroergice din molecula de fosfocreatină. În acest mod fosfocreatina apare ca un rezervor energetic accesoriu utilizabil de către mușchi numai prin intermediul ATP-ului. Astfel, în faza inițială, de inducție, cînd mușchiul a primit impulsul nervos, gruparea fosfat terminală se detașează din molecula de ATP sub acțiunea catalitică a actomiozinei, cu formare de ADP și acid fosforic, eliberîndu-se în același timp o cantitate de 8 000 de calorii pentru o moleculă de ATP. Mai departe, ATP se regenerează din ADP și fosfocreatină, după reacția Lohman. Desfacerea grupării fosfat din molecula de fosfocreatină este însoțită de eliberarea a 11 000 calorii/mol. În sfîrșit, fosfocreatina epuizată se regenerează pe seama ATP-ului care, la rîndul său, se reface pe seama degradării aerobe și anaerobe a glicogenului.

Din cele de mai sus rezultă că deși glicogenul reprezintă sursa energetică primară a țesutului muscular prin rolul său în contracția musculară, ATP constituie sursa energetică direct accesibilă acestui țesut, iar fosfocreatina, o rezervă temporară de legături fosfatice puternic energetice. În efortul muscular susținut poate să aibă loc nu numai epuizarea ATP-ului și a fosfocreatinei, dar chiar și a glicogenului. În acest caz însă, glicogenul se resintetizează din acid lactic sau din acid piruvic prin reacțiile reversibile din ciclul acizilor tricarboxilici.

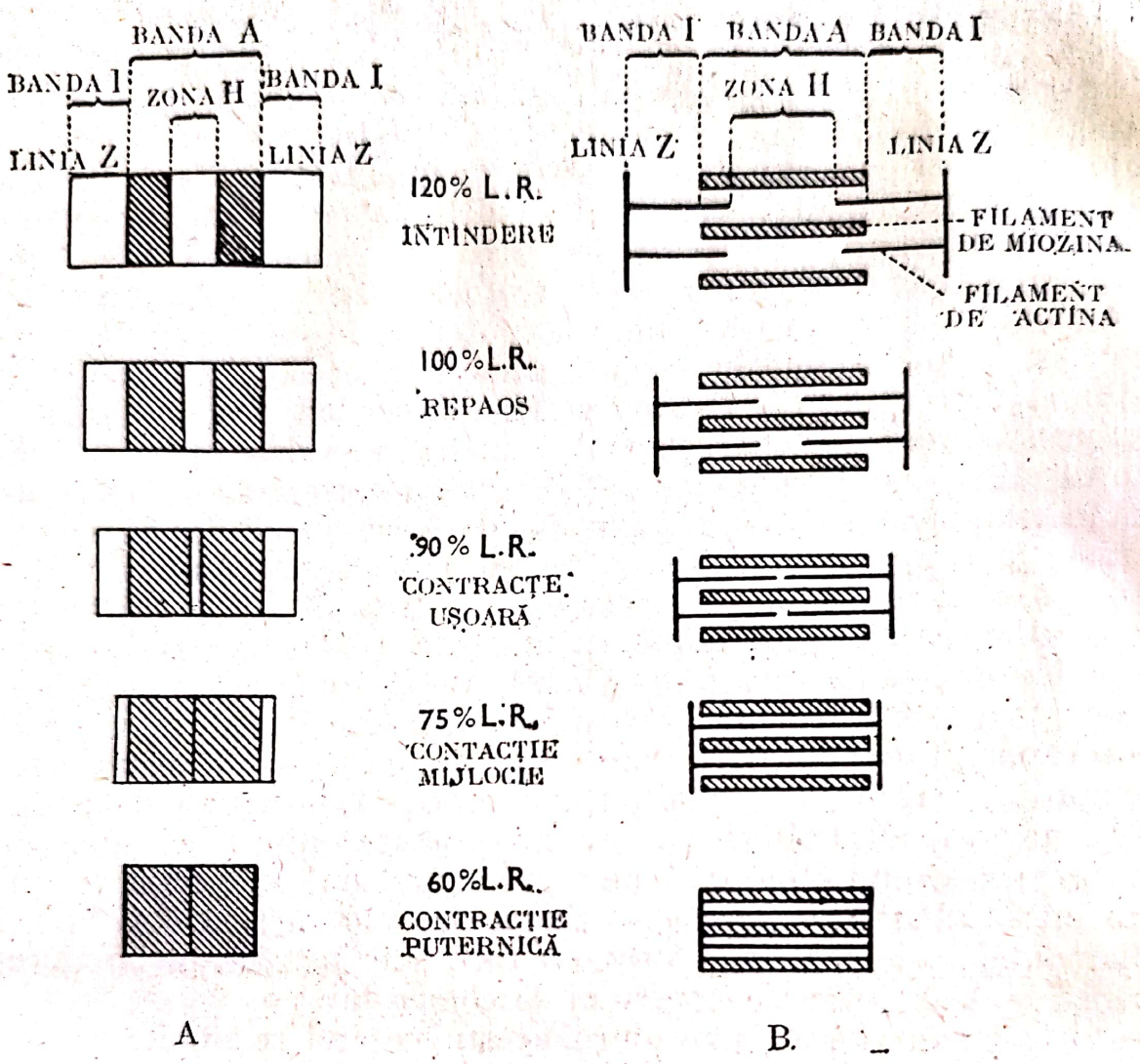
Scanned with OKEN Scanner

Fenomenele mecanice ale contracției musculare

Fenomenele fizico-chimice care corespund contracției fibrei musculare sînt încă incomplet cunoscute, deoarece nu se știe cu precizie mecanismul intim fizico-chimic care stă la baza contracției musculare. Este sugestivă afirmația lui Engelhardt care arată că au existat probabil tot atîtea teorii asupra contracției musculare, cîți cercetători s-au ocupat cu acest subiect. În esență, este vorba de modul în care energia chimică conținută în substanțele energetice este transformată în lucru mecanic în timpul contracției musculare. Cercetările lui Huxley și Hanson au adus unele lămuriri în acest domeniu. Astfel, studiul fibrilelor musculare izolate cu ajutorul microscopului cu contrast de fază a permis să se constate că în timpul contracției izotonice banda A nu se modifică ca dimensiune, în timp ce zona H se micșorează, iar banda I se scurtează. Invers, cînd miofibrila este întinsă, zona H se lărgește ca și banda I, în timp ce banda A rămîne nemodificată. Dacă se examinează la microscopul electronic miofibrilele după alungire sau scurtare, se constată că filamentele de actină și de miozină nu se schimbă sub raportul lungimii lor. Este vorba numai de o întrepătrundere reciprocă, mai mult sau mai puțin accentuată, în funcție de gradul de contracție al miofibrilelor. Aceste constatări au permis autorilor de mai sus să emită teoria după care mecanismul contracției ar consta într-o alunecare (glisare) a filamentelor de actină de-a lungul filamentelor de miozină, fenomen care s-ar petrece în interiorul benzilor A, în direcția centrului sarcomerului.

Așa cum am arătat la începutul acestui capitol, se admite că fibra musculară este formată din două tipuri de filamente alternante : filamente de miozină și filamente de actină, paralele între ele, dar separate spațial. Filamentele de miozină sînt localizate exclusiv în benzile A, pe cînd cele de actină se găsesc atît în benzile I, cît și în A, ele extinzîndu-se între liniile Z și pătrunzînd în spațiul benzilor A. Fiecare filament de actină intră în benzile A pînă la marginea zonei H, iar în zona H două filamente opuse de actină sînt legate printr-un fir foarte subțire, format dintr-o substanță extensibilă de natură încă necunoscută. Așadar, după teoria mecanismului glisant, scurtarea sarcomerului, adică contracția miofibrilelor nu ar avea loc printr-o scurtare a filamentelor de miozină, respectiv a celor de actomiozină, ci datorită unei alunecări a filamentelor de actină în interiorul benzilor A și paralel cu filamentele de miozină între care sînt intercalate. Se realizează astfel o

Scanned with OKEN Scanner



56. Modificările benzilor (A) și ale filamentelor proteice (B) ale sarcomerului în timpul modificărilor de lungime ale mușchiului striat (după Huxley)

scurtare a benzilor I, o apropiere a liniilor Z, datorită micșorării, pînă la dispariție, a zonei H (fig. 56), și o apropiere a celor două filamente de actină intercalate între filamentele de miozină. Această alunecare duce la scurtarea benzilor I și a sarcomerului, deci la contracția fibrei musculare. Conform acestei teorii, nu este vorba de o scurtare a filamentelor de actină și de miozină, ca în cazul altor teorii.

S-a încercat să se găsească reacțiile chimice care fac posibilă alunecarea filamentelor moleculare ale actinei între filamentele moleculare ale miozinei. Se presupune că alunecarea filamentelor de

Scanned with OKEN Scanner

actină devine posibilă atunci cînd ATP este desfăcut în ADP și acid fosforic, cu eliberarea grupării fosfat. Această grupare este transportată și legată pe miozină, făcînd ca aceasta din urmă să capete o încărcătură electrică negativă. Actina, avînd o încărcătură electrică pozitivă, este împinsă, printr-o atracție electrostatică, de-a lungul filamentului de miozină, alunecînd în același timp în interiorul benzilor A ocupate de miozină. Această atracție electrostatică are ca rezultat o scurtare a benzilor I, adică a sarcomerului, ceea ce reprezintă, din punct de vedere mecanic, tocmai contracția fibrei musculare. Cînd ATP-ul nu este scindat are loc desfacerea miozinei de actină, așa încît alternanța dintre ATP nescindat și scindarea ATP determină desfacerea și combinarea actină-miozină (fiecare combinare împingînd cu o anumită distanță filamentul de actină în interiorul benzilor A, ocupate de miozină), deci contracția. Fenomenul poate fi asemuit cu mișcările unei omizi. În esență, reacțiile dintre ATP și proteinele musculare contractile în timpul contracției și relaxării musculare s-ar putea formula astfel :

a) Miozină + ATP → miozină ~ P + ADP;
b) Miozină ~ ATP + actină → actomiozină + energie (contracție);
c) Actomiozină + ATP → actină + miozină — ATP (relaxare).

Teoria mecanismului glisant nu poate explica în întregime fenomenul general al contractilității, fapt care a determinat pe unii autori să elaboreze ipoteze după care nu numai simpla alunecare a miofibrilelor musculare ar interveni în procesul contracției musculare, ci și o depliere a proteinelor contractile.

Problema relației dintre procesul de excitație (influxul nervos) și al contracției musculare rămîne tot atît de puțin lămurită ca și contracția musculară însăși. Într-adevăr, într-o fibră musculară aflată în repaus sînt prezente toate elementele necesare unei contracții. De ce contracția musculară nu are loc în permanență și cum anume se declanșează ea? Cercetări moderne au arătat că sistemul sarcotubular deține rolul primordial în cuplarea fenomenelor de excitație cu cele de contracție. Am văzut că în eprubetă actina și miozina manifestă tendința de a se combina spontan, dînd naștere actomiozinei, și că în organismul viu această reacție nu are loc, deoarece în fibra în repaus prezența ATP într-o concentrație ionică mare împiedică formarea complexului actomiozinic. Dar, pentru ca această concentrație a ATP-ului să se mențină în anumite limite, este necesar ca activitatea enzimatică a miozinei să fie inhibată.

Scanned with OKEN Scanner

În 1951, Marsh a descoperit o substanță capabilă să inhibe această activitate enzimatică a miozinei și să permită deci un control fiziologic al contracției. Substanța a primit denumirea de *factor de relaxare*. Natura exactă și modul de acțiune al acestui factor nu sînt încă pe deplin clarificate, dar s-a reușit să se pună în evidență unele relații existente între acest factor și sistemul sarcotubular. Astfel, Ebrashi a putut demonstra că factorul de relaxare este intim legat de veziculele care revin din reticulul sarcoplastic și că aceste vezicule sînt capabile să absoarbă cantități mari de calciu. Așadar, se poate presupune că factorul de relaxare manifestă capacitatea de a elibera și concentra ionii de calciu care au un rol deosebit în procesul contracției musculare.

În concluzie, nu putem afirma că teoriile moderne asupra contracției musculare răspund la toate problemele ridicate de acest proces. Nenumărate aspecte rămîn încă neexplicate, iar mecanismul intim prin care energia chimică este transformată în energie mecanică, la nivelul filamentelor de actină și miozină, nu este încă clarificat.

Scanned with OKEN Scanner

Bibliografie

Axelrod B., *In Metabolic Palthways*, Acad. Press, New York, 1962, p. 110

Besmann S. P., „Advanc., clin. Chemistry", 1959, vol. 2, p. 135

Bigwood E. S., Schran E., Stiupart O., Vis H., „Exp. Ann. Biochim. med.", 1961, p. 9

Bodea C., *Tratat de biochimie vegetală*, vol. I, Ed. Acad. R. P. R. 1964.

Braunstein A. E., Ting-Sen H., „Biochimija", 1960, vol. 25, p. 758

Burstein M., „Bull. schweiz. Akad. Wiss.", 1961, vol. 17, fasc. 1—4, p. 92

Capilna S., „Fiziol. norm. și pat.", 1963, nr. 9, p. 199

Capilna S., „Fiziol. norm. și pat.", 1964, nr. 2, p. 115

Cohen P. P., Sallach H. S., *Metabolic Palthways*, ed. a II-a, vol. 2, Acad. Press., New York, 1961, p. 2

Commoner B., „Nature" 1964, vol. 203, p. 486

Cotăescu I., *Materia vie*, Ed. Științifică, București, 1962, p. 73

Dixon M., Webb E. C., *Enzymes Longmans*, 1960

Dumitrescu M. și colab., „Medicina internă", 1965, vol. 17, nr. 1, p. 35

Edsall J. T., *Aspect of Protein structure*, Acad. Press, London — New-York 1963, p. 23.

Fishman W. H., Putman, *The Plasma Protein*, Acad. Press, New-York, 1960, vol. 2, p. 59

Franks J. J. și colab., „J. Gen. Physiol.", 1963, vol. 46, p. 427

Gersenovich Z. G., Krichevskaya A. A., Kolousek J., „J. Neurochem.", 1963, nr. 10, p. 79

Gajdos A., „Press Med.", 1966, 7, 319

Gitlin D. și colab., „Nature", 1958, vol. 181, p. 1064

Good A. R., Kelly W. D., Rotstein J., Varco R. L., „Progr. Allergy." 1962, vol. 6, p. 187

Scanned with OKEN Scanner

Gounelle H., „Gazette méd. franc.", 1962, vol. 6, p. 915
Grabar P., „Advanc. Protein. Chem.", 1958, vol. 13, p. 1
Gray D. F., *Imunologie*, Ed. Medicală, București, 1966
Greenberg D. M., *Metabolic Pathways*, ed. a II-a, Acad. Press, New York-Londra, 1961, p. 84
Heremans J. F., „Bull. schweiz. Akad. Med. Wiss.", 1961, vol. 17, p. 119
Hesin R. B., *Biochimia citoplasmei*, Editura Medicală, 1961, pp. 39, 141
Holden J. T., *Aminoacids probs. Elsevier Publishing Company*, Amsterdam, London, New York, 1962
Huxley H. E., Hanson I., *Structure and Function of Muscle*, vol. I, edited by C. Bourne, New York, Academic Press, 1963
Huxley H. E., „J. Molec. Biol.", 1963, 7, 285
Jacobs F. A., Tarnasky W. C., Forks G., „J. Amer. med. Ass.", 1963, vol. 183, p. 765
Jayle M. F., Marnay A., Pointis S. N., „Nouv. Rev. franç. Hémat.", 1962, nr. 2, p. 455
Konzett H., *Polypeptiales which affect smooth muscles and blood vesels*, Ed. Schachter M., New York, 1960, p. 20
Kovalski V. V., „Uspehi sovremennoi biologhii", 1963, vol. 55, p. 1
Labadie P., „Rev. Prat", Paris, 1964, 14, 2231
Laster L., Ingelfinger F. J., „New Engl. J. Med.," 1961, vol. 264, p. 1138
Laverton R. M., *Protein and aminoacid nutrition*, Acad. Press., New York-Londra, 1959, p. 447
Lindgren F. F., Nichos A. V., *Plasma Proteins*, vol. II, Acad. Press, New York și Londra, 1960
Mandel P., Weil J. D., „J. Physiol." (Paris) 1962, vol. 54, p. 199
Manta I. și colab., *Biochimie medicală*, Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1965.
Maxîm I. A., „Rev. filozof.", 1965, vol. XII, nr. 4, p. 485
Mogoș Gh., *Proteinele*, Ed. Medicală, București, 1964, pp. 23, 197, 335, 485
Moraru J., Antohi Șt., *Introducere în genetica moleculară*, Ed. Medicală, București, 1964, p. 12, 66, 85
Muralt G., „Helv. med. Acta", 1962, vol. 29, p. 7
Nassif A. C., Nolan T. R., Corcoran A. C., „J. Amer. med. Ass." 1953, vol. 183, p. 751
Neiman J. M., „Anal. rom. sov." — Ser. Medicină, 1962, nr. 6, p. 29
Neimann N., „Med. infant.", 1965, pp. 72, 73, 77
Nestorescu N., Sasarman A., „Microbiologia" nr. 5—6, 1965, p. 441

Scanned with OKEN Scanner

ÎN EDITURA ȘTIINȚIFICĂ AU MAI APĂRUT

P. RAICU, S. BRATOSIN

Genetica în actualitate

N. P. DUBININ

Genetiça moleculară
Trad. din limba rusă

St. M. MILCU, C. MAXIMILIAN

Genetica umană

C. S. ANTONESCU

Mamifere din mări și oceane

M. UDRESCU

Ghidul naturalistului în lumea apelor dulci

C. BOGOESCU, Șt. BOLDOR

Homocromie și mimetism

VOR APĂREA

R. FLORU, M. STERIADE

Veghea și somnul
Colecția „Enciclopedia de buzunar"

COLECTIV

Introducere în biofizică

St. MILCU, A. MAXIMILIAN

Introducere în antropologie

M. GRUIA S. VASU

Cataliza și biocataliza în chimia modernă

Scanned with OKEN Scanner

Cuprinsul

1. Proteinele și lumea vie 5

Lumea vie și nevie 5

De la compușii simpli ai carbonului azotului la aminoacizi, precursorii proteinelor 12

Proteinele, substanțe organice complexe macromoleculare. Legătura dintre structura chimică și funcție 32

Diversitatea proteinelor din natura vie 64

Proteinele și materia vie 108

2. Proteinele și cataliza biologică 118

Enzimele, proteine biocatalizatoare 118

Cîteva enzime din natura vie 130

Sistemele enzimatice și structurile subcelulare 141

3. Proteinele și bazele moleculare ale nutriției, autoreproducerii și eredității 153

Metabolismul, baza vieții 153

Plantele verzi, laboratoare de transformare a azotului mineral în substanțe proteice 164

Echilibrul azotat și autoconservarea organismelor animale 177

Soarta proteinelor în tubul digestiv 186

Transformările proteinelor în celule și țesuturi. Metabolismul intermediar al proteinelor 193

Biosinteza proteinelor, baza autoreproducerii, a eredității și a variabilității 210

Scanned with OKEN Scanner

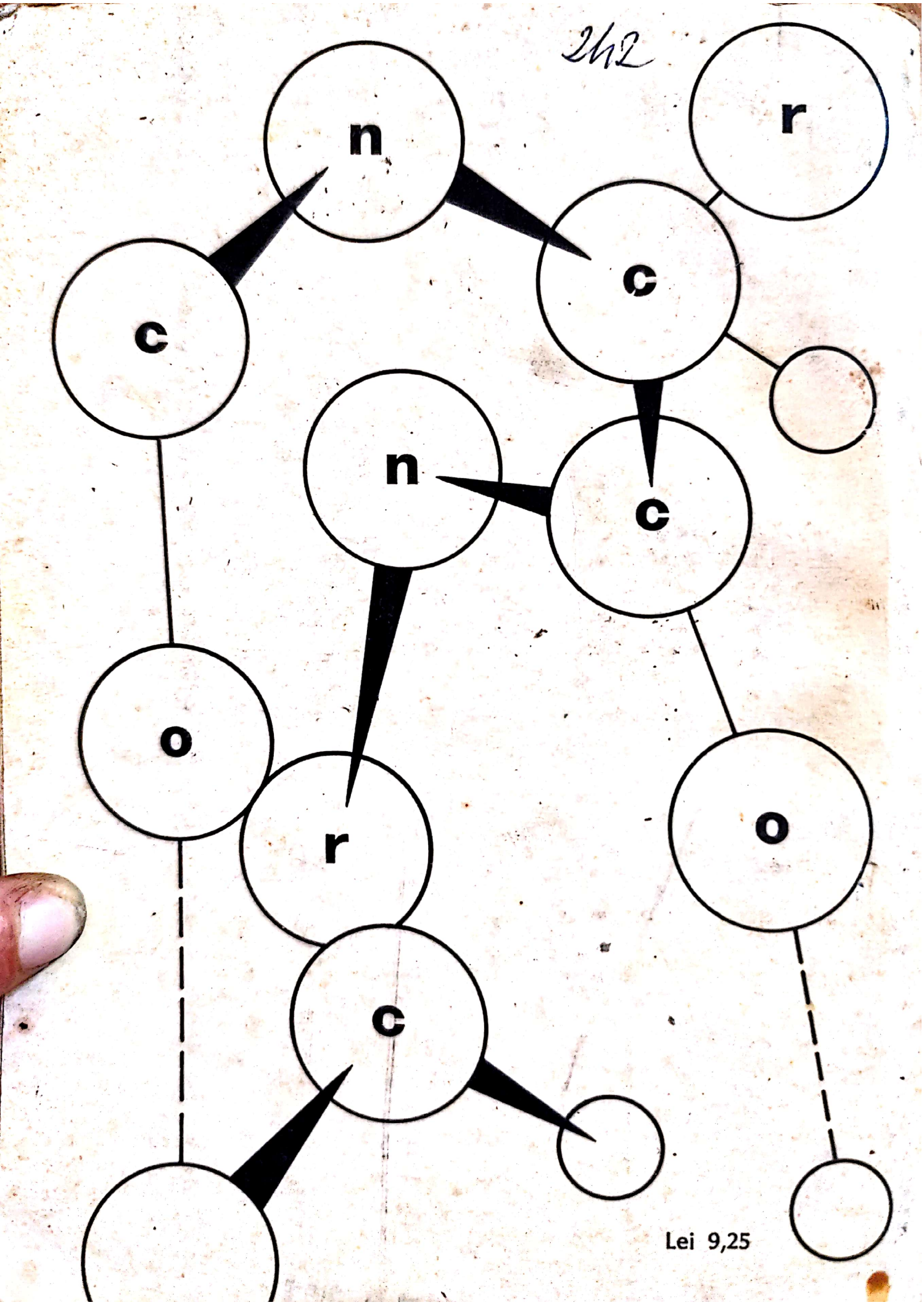
4. Proteinele și imunitatea 220

Imunitatea, însușire caracteristică a organismelor vii. Rolul proteinelor în imunitate 220
Antigenele, substanțe proteice și neproteice 226
Anticorpii, proteine specifice 230
Combinarea antigenilor cu anticorpii—mecanism de bază în procesele imunologice 235
Conflictul antigen-anticorp, alergia și autoagresiunea 241

5. Proteinele și contracția musculară 252

Structura și ultrastructura fibrei musculare 253
Compoziția chimică a țesutului muscular 258
Fenomenele chimice ale contracției musculare 262
Fenomenele mecanice ale contracției musculare 267

Scanned with OKEN Scanner



Lei 9,25

Scanned with OKEN Scanner